

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).

Influência de Bactérias Redutoras de Sulfato na corrosão do aço carbono AISI 1020
Monick A. da C. Rola^a, Diana J. Maciel^b, Lilian F. de Senna^c, Mariana S. de Paula^d, Dalva C. B. do Lago^e, Márcia M. M. Gonçalves^f

Abstract

The sulfate-reducing bacteria (SRB) are considered the main microorganisms involved in microbial corrosion. The sulphate reduction by these bacteria results in the generation of hydrogen sulfide (H₂S) and can influence the processes in the anodic and cathodic corrosion of materials. In this work the microbiological corrosion behavior of the carbon steel AISI 1020 was evaluated in Postgate C medium, in the presence and absence of SRB for 35 days. The mechanisms of corrosion were investigated by the quantification of sessile and planktonic cells, potentiodynamic polarization method and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). Quantification assays showed that the maximum value attained by planktonic population was on the 14th day and the sessile population was on day 21, when it was observed an intense formation of FeS precipitate. The corrosion current density was always higher in the medium with SRB, especially at higher immersion times, proving that the presence of these bacteria enhances the corrosion process of carbon steel. The study revealed that higher impedance values were found in the 21th day of immersion, and the biofilms formed showed a porous and unstable character.

Keywords: SRB, microbiological corrosion, impedance, carbon steel AISI 1020, polarization

Resumo

As bactérias redutoras de sulfato (BRS) são consideradas os principais micro-organismos envolvidos no processo de corrosão microbiológica. A redução do sulfato por estas bactérias resulta na produção de ácido sulfídrico (H₂S), podendo influenciar os processos anódico e catódico na corrosão de materiais. Neste trabalho, o comportamento da corrosão microbiológica no aço carbono AISI 1020 foi avaliada em meio Postgate C, na presença e na ausência de BRS durante 35 dias. Os mecanismos de corrosão foram investigados através da quantificação das células planctônicas e sésseis, pelo método de polarização potenciodinâmica e pela espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS). Os ensaios de quantificação mostraram que o valor máximo alcançado pela população planctônica foi no 14^o dia e na população sésil foi no 21^o dia, sendo observada uma intensa formação de precipitado de FeS. A densidade de corrente de corrosão foi sempre mais elevada no meio com BRS em comparação ao meio sem BRS, especialmente em maiores tempos de imersão, comprovando que a presença destas bactérias intensifica o processo corrosivo do aço carbono. O estudo de

^a Graduanda - Licenciatura em Química - Universidade do Estado do Rio de Janeiro

^b Graduanda - Licenciatura em Química - Universidade do Estado do Rio de Janeiro

^c D.Sc. - Engenharia Química - Universidade do Estado do Rio de Janeiro

^d M. Sc. - Ciências Biológicas - Universidade do Estado do Rio de Janeiro

^e D.Sc. - Licenciatura em Química - Universidade do Estado do Rio de Janeiro

^f D. Sc. - Engenharia Química - Universidade do Estado do Rio de Janeiro

impedância revelou que maiores valores foram encontrados no 21º dia de imersão, e que o biofilme formado apresentou um caráter poroso e instável.

Palavras-chave: BRS, corrosão microbiológica, impedância, aço carbono AISI 1020, polarização.

1. Introdução

A corrosão, em suas diversas formas, pode causar danos em pontes, embarcações, plataformas e em oleodutos (1). Estima-se que cerca de 20% desses danos é devido à biocorrosão (2), também chamada de corrosão microbiologicamente induzida (CMI), que é um processo eletroquímico de dissolução metálica iniciado ou acelerado por bactérias e outros micro-organismos através de suas atividades metabólicas (3).

A interação da bactéria com a superfície do metal resulta na formação de biofilmes, que podem afetar severamente a cinética de reações catódicas e/ou anódicas de um processo (4). Uma parte significativa deste processo deve-se à corrosão influenciada por Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS). As BRS são micro-organismos anaeróbios, porém há relatos em que elas consigam suportar pequenas concentrações de oxigênio molecular (5,7). Elas apresentam como principal característica a utilização do íon sulfato como acceptor final de elétrons para realização do seu processo bioenergético, tendo como produto final o gás sulfeto de hidrogênio (H_2S), que é tóxico e corrosivo (8).

A participação das BRS em processos corrosivos tem sido relatada em estruturas metálicas, sistemas de abastecimento de água, revestimentos de poços petrolíferos, tubulações enterradas, poços de água profundos e sistemas de resfriamento (9).

Vários mecanismos de CMI em materiais metálicos, sob condições anaeróbias, são amplamente aceitos para explicar a ação das BRS nos processos corrosivos, tais como a teoria da despolarização catódica, formação de células de aeração diferencial e a produção de sulfetos (10). Atualmente, pesquisas têm sido feitas para investigar a formação de biofilmes na corrosão de ligas de aço usando várias espécies de BRS (3, 9, 11, 12).

No presente trabalho, o comportamento da corrosão microbiológica do aço carbono 1020 foi avaliado em água do mar sintética, em condições de anaerobiose, na presença e na ausência de BRS. Os objetivos foram quantificar a população planctônica e sésil de BRS, isolada de uma tubulação submersa na Baía de Guanabara - RJ, e avaliar a corrosão através dos métodos eletroquímicos de curvas de polarização e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS).

2. Metodologia

2.1 Cupons metálicos

Foram confeccionados cupons metálicos retangulares de aço carbono 1020 com uma área média em torno de 3 cm^2 para os ensaios de polarização e espectroscopia de impedância eletroquímica. Os cupons foram polidos com lixas d'água de granulometria de 100 a 600

mesh, lavados com água destilada e álcool etílico, secos com jato de ar quente e em seguida acondicionados em dessecador até o momento de imersão no meio corrosivo. Além disso, os corpos de prova foram ligados a um fio condutor de cobre e embutidos em resina epóxi, para que apenas uma de suas faces ficasse exposta na solução.

2.2 Micro-organismo e Cultivo

Uma cultura mista de BRS foi isolada de uma amostra de ferrugem presente numa tubulação submersa na Baía de Guanabara - RJ. A camada de ferrugem foi raspada e em seguida inoculada em frascos de 50 mL contendo meio Postgate C modificado (8). Este meio seletivo favorece o crescimento do grupo de interesse, inibindo o crescimento de outras espécies bacterianas. Assim, o meio foi preparado com água do mar sintética (13) sob purga de nitrogênio, sendo o pH ajustado para 7,6 com a solução de NaOH 1 mol/L. Em seguida, o meio foi distribuído nos frascos adequados e esterilizado em autoclave por 15 minutos a 121°C. Os frascos inoculados foram incubados em estufa a uma temperatura de 30°C.

2.3 Procedimento Experimental

Os ensaios de biocorrosão foram conduzidos em frascos de 100 mL de capacidade, denominados reatores, contendo para os ensaios em branco, 80 mL de meio Postgate C e para os ensaios com BRS, 80 mL do meio em questão inoculado a 10% v/v. Antes da inoculação, os reatores (já contendo o meio) foram esterilizados em autoclave por 15 minutos a 121°C, em seguida o meio foi purgado com gás nitrogênio, a fim de remover o oxigênio dissolvido. O inóculo foi adicionado numa concentração inicial de $4,5 \times 10^5$ células/mL e os cupons metálicos foram imersos nos reatores, após serem esterilizados em fluxo laminar pela ação da luz ultravioleta (UV). O tempo total dos ensaios foi de 35 dias, com retirada de amostras a cada 7 dias.

2.4 Quantificação das BRS

A estimativa da população de BRS foi realizada empregando-se o método do Número Mais Provável (NMP $n=3$). O meio de cultivo selecionado foi o Postgate E semi-sólido modificado (8). A presença de BRS em tubos e frascos foi avaliada pela formação do precipitado escurecido de sulfeto ferroso. O tempo de incubação foi de 28 dias a 30 °C.

Para a quantificação das células sésseis, o cupom metálico foi retirado assepticamente do meio corrosivo e transferido para um frasco contendo solução de diluição (13) para extrair o biofilme ali aderido. O corpo de prova foi então agitado em vórtex por 4 minutos e depois sonificado por 2 minutos em sistema de limpeza ultrassônica - BRANSON 200. Após a remoção do biofilme, foram retiradas alíquotas da suspensão para quantificação de BRS.

2.6 Técnicas eletroquímicas

Todos os experimentos eletroquímicos foram realizados com um potenciostato/galvanostato Autolab modelo PGSTAT302N e uma célula contendo três eletrodos: o próprio eletrodo de aço exposto ao meio em questão (eletrodo de trabalho), o eletrodo de referência de calomelano saturado, e um contra-eletrodo de platina.

Os ensaios de polarização foram conduzidos em triplicata e os de impedância em duplicata, à exceção do branco em que não foram utilizadas replicatas. Ambos os ensaios foram realizados a cada 7 dias.

Curvas de polarização potenciodinâmica: As curvas de polarização foram determinadas em uma faixa de potencial de -1,2 V (ECS) com uma velocidade de varredura de 20 mV/s (14, 15), após a estabilização do potencial de circuito aberto.

Medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS): Este experimento foi empregado para investigar as propriedades eletroquímicas da superfície do metal corroído após a imersão no meio Postgate C. A faixa de frequência submetida foi de 10^6 Hz a 0,001 Hz, com aquisição de 10 pontos por década. A amplitude do sinal de tensão senoidal foi de 10mV (16).

3. Resultados e discussão

3.1 Avaliação do Crescimento Microbiano

A quantificação das BRS foi feita no fluido do ensaio (células planctônicas) e nas bactérias aderidas ao substrato metálico (células sésseis) a cada 7 dias. Os resultados obtidos na contagem das bactérias planctônicas realizadas pela técnica do NMP estão apresentados na Figura 1.

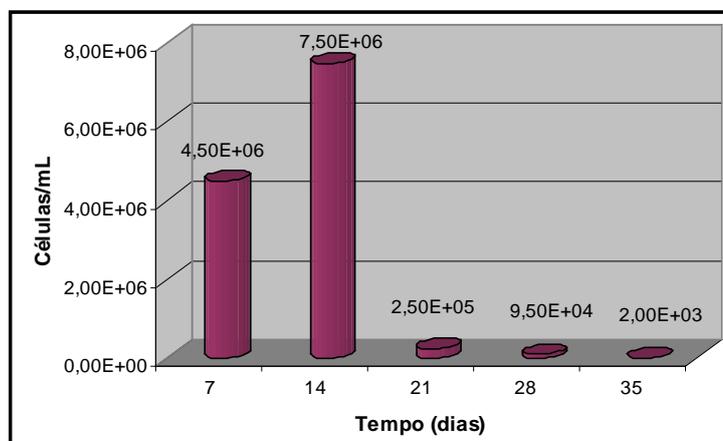


Figura 1 - Colonização de BRS planctônicas ao longo de 35 dias de ensaio

A Figura 1 mostra que, decorridos 7 dias, houve um aumento considerável no número de células planctônicas de BRS. No 14º dia de ensaio a população de BRS alcançou o seu valor máximo ($7,5 \times 10^6$ células/mL), sendo observado um intenso enegrecimento no fluido do processo, devido à formação do precipitado de FeS (1). A partir desse estágio, porém, pode-se notar um decréscimo significativo do número de células planctônicas. Esta queda pode estar relacionada à falta de nutrientes e/ou à geração biogênica do sulfeto de hidrogênio, o qual é considerado um inibidor de crescimento quando presente em concentrações elevadas (17). A partir do 21º dia de ensaio, o número de células planctônicas diminuiu em uma ordem de grandeza, mantendo esta proporção até o final do ensaio. Paralelamente, foi constatado

através de fotografias superficiais dos corpos de prova feita em microscópio estereoscópio (dados não mostrados) (13), que a espessura do biofilme aderido à superfície do metal aumentou neste estágio. Esse fato sugere que houve aumento no número de bactérias aderidas à superfície do metal e diminuição do número de células em solução.

A seguir, estão registrados na Figura 2 os resultados obtidos na contagem das células sésseis, após remoção do biofilme aderido à superfície do metal, também pela técnica do NMP.

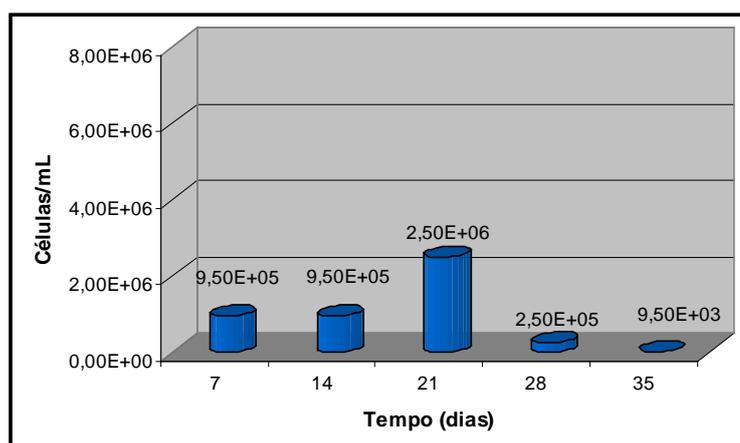


Figura 2 - Colonização de BRS sésseis ao longo de 35 dias de ensaio

Analisando o crescimento das células sésseis, é possível observar que a maior concentração de bactérias ocorreu no 21º dia de ensaio, sendo justamente o dia em que se observou uma redução no número de células planctônicas. A partir do 28º dia ocorreu uma redução considerável no número de bactérias sésseis aderidas ao biofilme, embora as concentrações se mantivessem ainda maiores do que aquelas verificadas nas células planctônicas. A queda na concentração de células sésseis no sistema pode ser atribuída também à falta de nutrientes e/ou ao aumento da concentração de H_2S .

3.4 Análises eletroquímicas

3.4.1 Curvas de polarização anódica e catódica com parâmetros eletroquímicos

Na Figura 3 são mostrados os resultados das curvas de polarização anódicas e catódicas do aço obtidas no meio Postgate C na ausência de BRS (A) e na presença de BRS (B).

É possível observar que não há mudanças significativas na forma das curvas de polarização anódicas e catódicas do aço carbono 1020 na ausência e presença de BRS. Esse resultado sugere que os mecanismos dos processos anódicos e catódicos no referido aço não mudam essencialmente nos sistemas contendo BRS, conforme observado por Kuang et al. (15). Contudo, verifica-se um deslocamento das curvas anódicas e catódicas para maiores valores de densidade de corrente, quando o aço está exposto ao meio contendo micro-organismos (Figura 3B). Isto ocorre para todos os tempos de exposição estudados, exceto para o tempo 0, que equivale a duas horas de exposição. Este resultado sugere que a presença de BRS atua sobre ambas as semi-reações eletroquímicas (catódica e anódica).

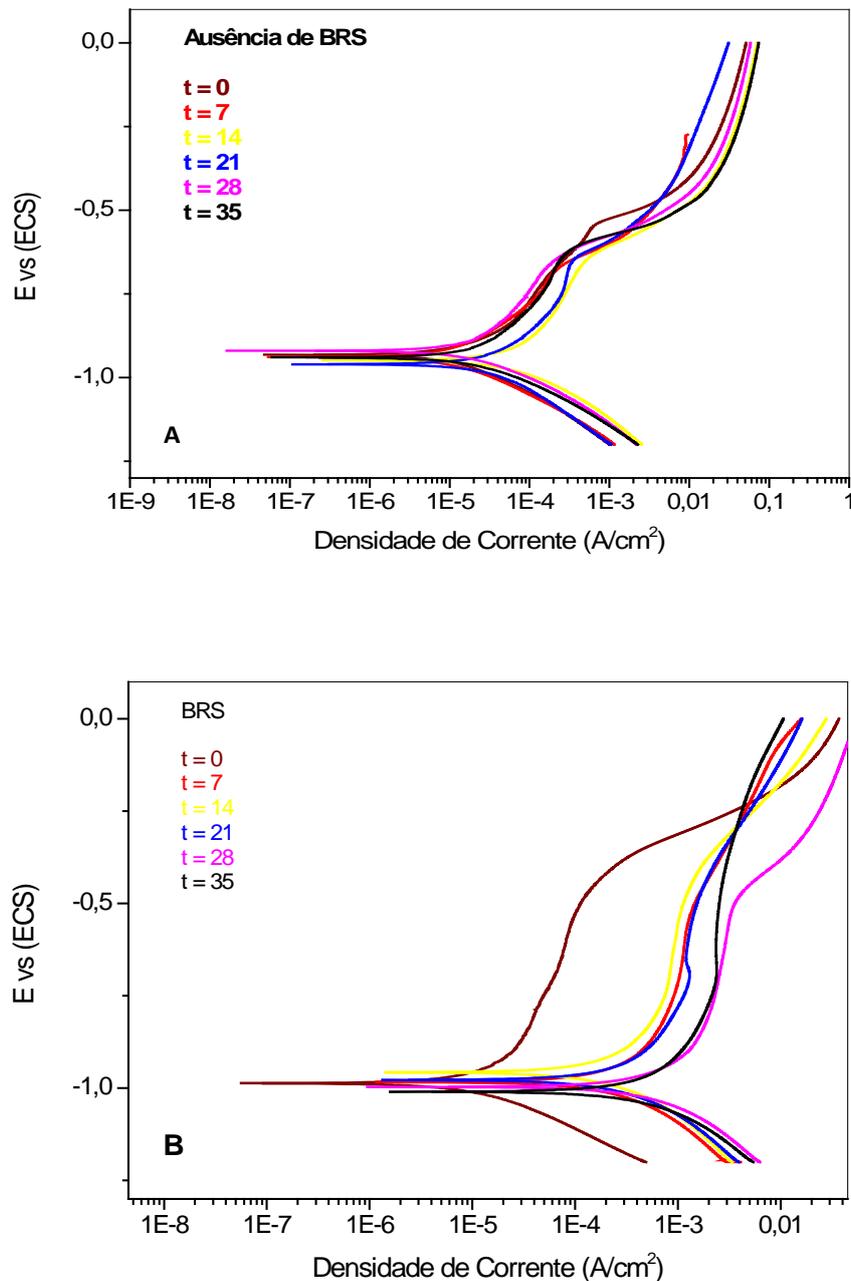


Figura 3 - Curvas de polarização do aço carbono 1020 no meio Postgate C, na ausência (A) e na presença (B) de BRS.

Adicionalmente, a Figura 4 mostra os valores da variação média da densidade de corrente de corrosão para cada tempo, onde se constata que a condição mais agressiva para os corpos de prova foi sempre obtida na presença das BRS, aumentando intensamente com o tempo de exposição, até 28 dias. Esse resultado mostra que, realmente, os micro-organismos possuem um efeito acelerador na oxidação do aço carbono. É interessante notar que este aumento já ocorre após 7 dias de imersão. Por outro lado, a densidade de corrente de corrosão para o

meio sem BRS mantém-se praticamente constante, havendo um pequeno aumento entre 14 e 21 dias de exposição.

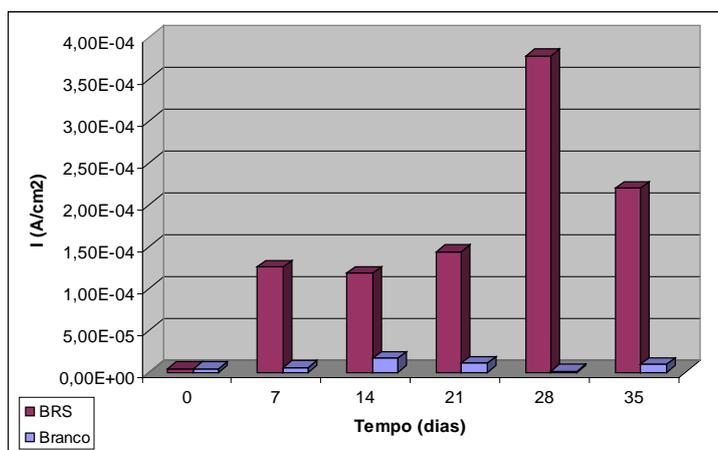


Figura4 - Variação média da densidade de corrente de corrosão com o tempo (dias).

Os parâmetros eletroquímicos correspondentes ao potencial de corrosão e à densidade de corrente de corrosão, obtida da extrapolação das retas de Tafel (Figura 3), podem ser melhor visualizados na Tabela 1.

Tabela 1 - Parâmetros eletroquímicos do aço carbono 1020 na presença e ausência de BRS

Tempo (dias)	Ensaio sem BRS		Ensaio com BRS	
	E_{corr} (V)	I_{corr} (A/cm ²)	E_{corr} (V)	I_{corr} (A/cm ²)
0	-0,932	4,01 E-06	-0,994	4,18 E-06
7	-0,934	5,55 E-06	-0,982	1,26 E-04
14	-0,948	1,68 E-05	-0,957	1,18 E-04
21	-0,960	1,12 E-05	-0,977	1,44 E-04
28	-0,920	1,29 E-06	-0,997	3,78 E-04
35	-0,940	9,61 E-06	-1,010	2,87 E-04

Na Tabela 1, percebe-se que a diferença entre os valores de densidade de corrente de corrosão obtidos nos ensaios nos meios com e sem BRS é de duas ordens de grandeza para os maiores tempos de imersão (28 e 35 dias), conforme já foi observado na Figura 4. O maior valor de densidade de corrente de corrosão foi obtido no meio com BRS, em 28 dias de imersão. Dessa forma, o aumento da densidade de corrente de corrosão pode estar relacionado a um processo de aeração diferencial, em função de um biofilme mal formado, bem como à presença de produtos metabólicos que foram produzidos e permaneceram na superfície do metal, aumentando o processo corrosivo (13).

3.4.2 Análises de EIS

A Figura 5 mostra os diagramas de Nyquist para o aço carbono 1020 sem e com BRS durante os 35 dias de ensaio.

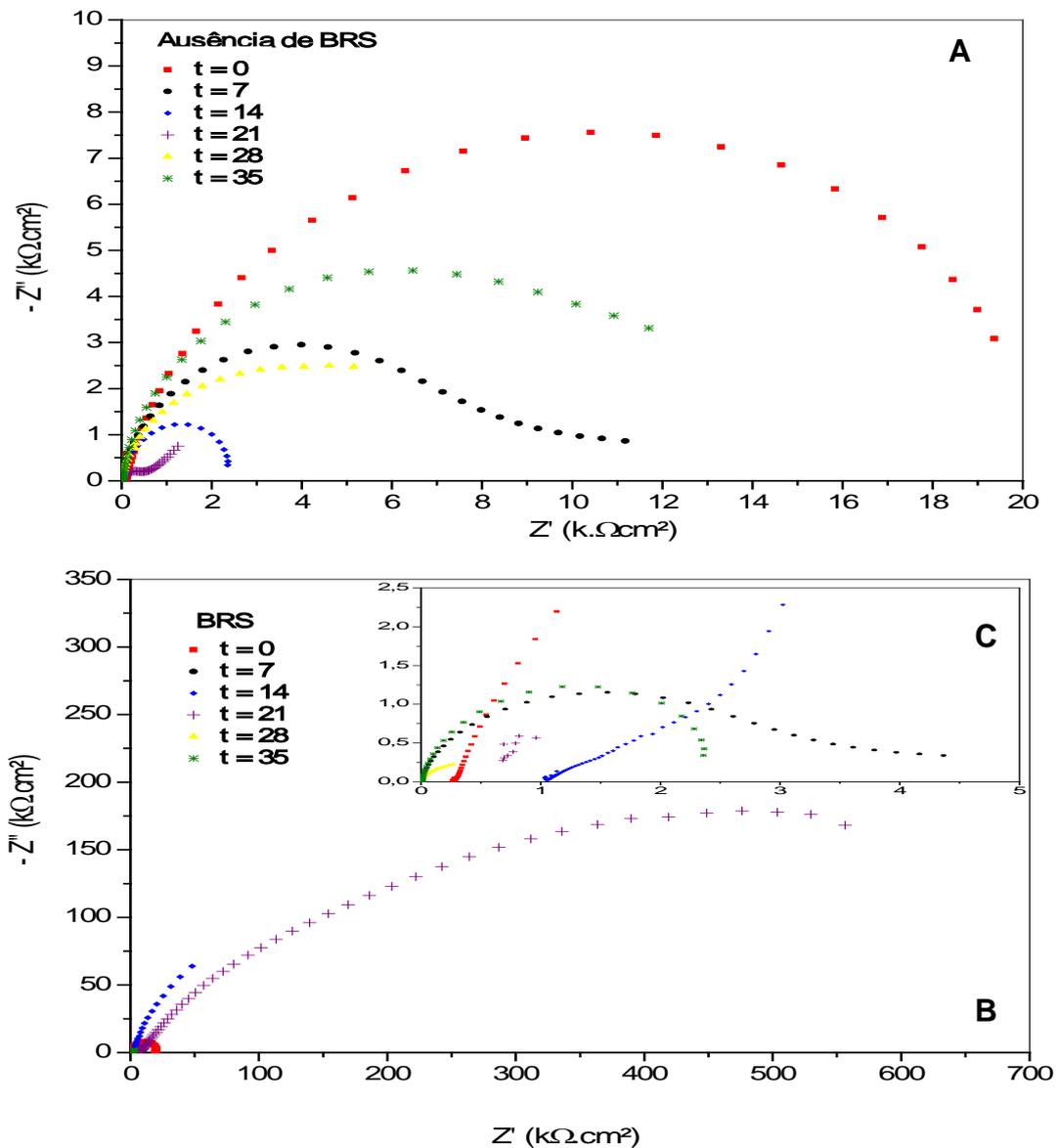


Figura 5 – Diagramas de Nyquist do aço carbono 1020 no meio Postgate C

(A) na ausência de BRS, (B) na presença de BRS e (C) diagrama ampliado de (B)

Os diagramas apresentados na Figura 5 mostram diferentes comportamentos nas duas condições estudadas ao longo do tempo. Para o ensaio em meio Postgate C sem a presença de BRS, observa-se uma diminuição na magnitude da impedância nas primeiras semanas de exposição ao meio corrosivo e depois observa-se um aumento para maiores dias de exposição (28 e 35 dias), conforme mostra a Figura 5A. Neste caso, os valores de impedância foram menores em relação ao ensaio com BRS (Figura 5B), devido provavelmente ao tipo de filme formado, o qual não tem origem biogênica (1,5).

Já na presença de BRS, observa-se que no 21º dia maiores valores de impedância foram obtidos. Este comportamento pode ser atribuído ao maior número de células sésseis quantificadas pela técnica do NMP para este tempo, conforme visto na Figura 2. Portanto, este

aumento da impedância deve-se, provavelmente, ao aumento da espessura do biofilme e a camada de produtos de corrosão excretados pelas bactérias, conforme observado por Duan et al. (1).

Após 21 dias, verifica-se na Figura 5C, uma redução nos valores de impedância, possivelmente, decorrente da instabilidade do biofilme e da formação de produtos de corrosão porosos e com baixa aderência. Este resultado concorda com os resultados de polarização, onde o maior I_{corr} foi obtido em 28 dias de imersão (Figura 4) e com o decréscimo do número de bactérias sésseis (Figura 2), a partir de 21 dias. Segundo Heitz et al. (2), filmes finos de Fe_xS_y podem ser instáveis, e a presença de pequenas rupturas ou poros nestes filmes resultam em atividades bacterianas localizadas, causando corrosão por pites.

A literatura revela que há divergências entre os estudos de impedância quando comparados aos de polarização usando cultura pura de BRS. Porém não há explicações concisas para este fenômeno (1,18).

Conclusões

O estudo da comunidade microbiana é de suma importância para poder compreender melhor a corrosão microbiologicamente induzida.

Em geral, os ensaios realizados em laboratório confirmam que as BRS desempenham um papel importante na corrosão do aço carbono 1020. Isto é devido, provavelmente, à capacidade das BRS em se aderir facilmente a substratos metálicos, formando biofilmes que favorecem as reações eletroquímicas no meio de cultura líquido.

Os ensaios de impedância mostraram que o biofilme formado na superfície do aço era instável e por isso observou-se variações na magnitude da impedância.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPERJ e à UERJ pelo apoio financeiro. Dalva C. B. do Lago e Lilian F. Senna agradecem também ao Programa Prociência.

Referências bibliográficas

- (1) DUAN, J., WU, S., ZHANG, X., HUANG, G., DU, M., HOU, B. Corrosion of carbon steel influenced by anaerobic biofilm in natural seawater. **Electrochimica Acta**, Milano v. 54, n. 1 p. 22-28, Dec. 2008.
- (2) HEITZ, E., FLEMMING, H.C., SAND, W. **Microbially Influenced Corrosion of Materials**, Berlin: Springer-Verlag, 1996. p-6.
- (3) MIRANDA, E., BETHENCOURT, M., BOTANA, F.J., CANO, M.J., SÁNCHEZ-AMAYA, J.M., CORZO, A., LOMAS, J. G., FARDEAU, M. L., OLLIVIER, B.

Biocorrosion of carbon steel alloys by an hydrogenotrophic sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio capillatus* isolated from a Mexican oil field separator. **Corrosion Science**, Oxford, v 48, n. 9 p. 2417–2431, Sep. 2006.

- (4) XU, C., ZHANG, Y., CHENG, G., ZHU, W., Localized corrosion behavior of 316L stainless steel in the presence of sulfate-reducing and iron-oxidizing bacteria. **Materials Science and Engineering**, California, v. 443, n. 1-2, p. 235-241, Jan. 2007.
- (5) WAN, Y., ZHANG, D., LIU, H., LI, Y., HOU, B. Influence of sulphate-reducing bacteria on environmental parameters and marine corrosion behavior of Q235 steel in aerobic conditions. **Electrochimica Acta**, Milano, v. 55, n. 5, p. 1528–1534. Feb. 2010.
- (6) SIGALEVICH, P., COHEN, Y. Oxygen-Dependent Growth of the Sulfate-Reducing Bacterium *Desulfovibrio oxyclinae* in Coculture with *Marinobacter* sp. Strain MB in an Aerated Sulfate-Depleted. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 11, p. 5019–5023, Nov. 2000.
- (7) BRUNE, A., FRENZEL, P., CYPIONKA, H. Life at the oxic–anoxic interface: microbial activities and adaptations. **FEMS Microbiology Reviews**, Germany, v. 24, n. 5, p. 691–710. Dec. 2000.
- (8) POSTGATE, J. R. **The sulphate-reducing bacteria**. 2^a ed., Cambridge University Press, Cambridge, England, 1984.
- (9) BEECH, I. B., CHEUNG, C. W. S., CHAN, C. S. P., HILL, M. A., FRANCO, R., LINO, A. R. Study of parameters implicated in the biodeterioration of mild steel in the presence of different species of sulphate-reducing bacteria. **International Biodeterioration and Biodegradation**, Suitland, v. 34, p. 289-203, Dec. 1994.
- (10) BEECH, I. B.; GAYLARDE, C. C.; Recent advances in the study of biocorrosion. An overview. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 30, n. 3 p. 177-190, July/Sept. 1999.
- (11) ANANDKUMAR, B., GEORGE, R. P., MARUTHAMUTHU S. N., PALANISWAMY, R., DAYAL, K. Corrosion behavior of SRB *Desulfobulbus propionicus* isolated from an Indian petroleum refinery on mild steel. **Materials and Corrosion**, Cambridge, v. 62, DOI: 10.1002/maco.201005883, p. 1-8. Jan. 2011.
- (12) CASTANEDA, H.; BENETTON, X.D. SRB-biofilm influence in active corrosion sites formed at the steel electrode interface when exposed to artificial seawater conditions. **Corrosion Science**, Oxford, v. 50, n. 4, p.1169-1183, April. 2008.
- (13) PAULA, S., M. **Avaliação da corrosão microbiológica do aço carbono 1020 em água do mar sintética na presença de Bactérias Redutoras de Sulfato**. 2010. 105 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

- (14) CETIN, D.; AKSU, M, L.; Corrosion behavior of low-alloy steel in the presence of *Desulfotomaculum* sp. **Corrosion Science**, Oxford, v 51, n. 8, p. 1584-1588, Aug. 2009.
- (15) KUANG, F.; WANG, J.; YAN, L.; ZHANG, D.; Effects of sulfate-reducing bacteria on the corrosion behavior of carbon steel. **Electrochimica Acta**, Milano, v. 52, n. 20, p. 6084-6088, June. 2007.
- (16) XU, J., WANG, K., SUN, C., WANG, F., LI, X., YANG, J., YU, C. The effects of sulfate reducing bacteria on corrosion of carbon steel Q235 under simulated disbanded coating by using electrochemical impedance spectroscopy. **Corrosion Science**, Oxford, v. 53, n. 4, p. 1554–1562, April. 2011.
- (17) GONÇALVES, M. M. M. **Remoção de metais pesados de efluentes em biorreator anaeróbio empregando fontes de carbono alternativas**. 2001. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001.
- (18) LEE, A., K. BUEHLER, M., G. NEWMAN, D., K. Influence of a dual-species biofilm on the corrosion of mild steel. **Corrosion Science**, Oxford, v. 48, n. 1, p.165–178, Jan. 2006.