

## **Avaliação de biocidas naturais no controle da biocorrosão em aço carbono 1020 por *Desulfovibrio alaskensis***

**Rodrigo S. Fonseca<sup>a</sup>, Victoria de C. M. Ferreira<sup>b</sup>, Dalva C. B. Lago<sup>c</sup>, Lilian F. de Senna<sup>d</sup>, Marcia M. M. Gonçalves<sup>e</sup>**

### **Resumo**

O objetivo desse trabalho é avaliar o uso de biocidas naturais no controle da corrosão microbiologicamente induzida (CMI) do aço carbono AISI 1020 por bactérias redutoras de sulfato (BRS). O comportamento da CMI no aço foi avaliado em água do mar sintética, em condições de anaerobiose, na presença de uma cultura de *Desulfovibrio alaskensis*. Os biocidas óleo de alho, lúpulo, extrato de nim, e glutaraldeído foram utilizados para controlar a biocorrosão. A varredura dos potenciais biocidas foi realizada através da análise do crescimento microbiano na superfície do aço, com a quantificação das BRS sésseis pelo método do número mais provável (NMP), por períodos variando de 1 a 7 dias. Os resultados mostram que os biocidas lúpulo e extrato de nim tiveram melhores resultados na inibição do crescimento microbiano. Em seguida, o comportamento eletroquímico do aço carbono no meio contendo os biocidas selecionados ou o glutaraldeído, foram estudados por meio da técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE), usando sempre água do mar sintética como meio eletrolítico. Os resultados indicam que o lúpulo apresentou melhores resultados até 48 horas e, após esse tempo, o extrato de nim foi mais efetivo. Além disso, ensaios de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizados para visualizar a presença ou não do biofilme na superfície do aço nos ensaios com biocida em 4 e 7 dias e verificou-se que, no ensaio com glutaraldeído, houve dificuldade na formação do biofilme.

**Palavras-chave:** Bactérias redutoras de sulfato, biocidas naturais, biocorrosão.

### **Introdução**

A corrosão microbiologicamente induzida (CMI) é aquela em que o material susceptível à corrosão se processa sob influência de microrganismos (1). Ela também pode ser definida como o processo eletroquímico de dissolução metálica iniciado ou acelerado por microrganismos, sem modificar as características da reação. Tem-se, então, um processo anódico de dissolução metálica, concomitante a um processo catódico dependente das características do meio corrosivo (2).

Bactérias, que são os microrganismos estudados neste trabalho, estão espalhadas no meio ambiente e apresentam tendência em aderir a superfícies, desde que existam condições favoráveis ao seu desenvolvimento. Tal interação, entre as bactérias com os materiais

<sup>a</sup> Mestre, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)

<sup>b</sup> Estudante, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)

<sup>c</sup> Doutora, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)

<sup>d</sup> Doutora, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)

<sup>e</sup> Doutora, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)

susceptíveis à corrosão, resulta na formação de biofilmes, que afetam a cinética de reações catódicas e/ou anódicas de um processo corrosivo (3).

Os principais grupos microbianos associados a CMI são as bactérias redutoras de sulfato (BRS), as oxidantes de enxofre, as oxidantes do ferro e as formadoras de exopolímeros. Entre todas, as BRS são o principal grupo envolvido nos casos de biocorrosão. Estas bactérias causam corrosão em estruturas metálicas, revestimentos de poços petrolíferos, partes externas de tubulações enterradas, poços de água profundos, sistemas de resfriamento, dentre outros (1). As BRS possuem certa facilidade em serem detectadas, pois o seu processo metabólico gera como produto o gás sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ), que é tóxico ao ambiente e corrosivo (4).

Devido ao uso crescente de estruturas metálicas no cotidiano, o impacto financeiro causado pelos processos biocorrosivos têm fomentado a pesquisa para realizar detecção, tratamentos preventivos e corretivos de estruturas metálicas. Logo, é de suma importância compreender o comportamento das BRS na corrosão de aços com a finalidade de mitigar os danos causados pela CMI por meio de algumas alternativas como, por exemplo, os biocidas.

A maioria dos biocidas utilizados comercialmente como, por exemplo, cloro, bromo, ozônio e o glutaraldeído, são eficientes no controle da biocorrosão. Mas, a grande maioria deles apresenta como principal desvantagem a sua toxicidade ao meio ambiente e dificuldade de degradação (2). Logo, tem-se buscado continuamente a utilização de compostos naturais para, no mínimo, diminuir a utilização de biocidas sintéticos. Algumas especiarias e legumes como cravo, canela, cominho, tamarindo, alho e cebola vêm sendo testadas com essa finalidade. No presente estudo, extrato de nim e lúpulo foram os compostos avaliados como biocidas naturais. Sua capacidade como biocidas e sua habilidade de proteger o aço carbono contra a corrosão microbiológica por BRS foram comparadas com um biocida tradicionalmente usado, o glutaraldeído.

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar a ação de biocidas naturais como óleo de alho, extrato de nim e o lúpulo, no controle da corrosão microbiológica no aço carbono AISI 1020 em água do mar sintética por BRS.

## Metodologia

A BRS utilizada neste estudo foi a *Desulfovibrio alaskensis* adquirida da *National Collection of Industrial, Food and Marine Bacteria* – NCIMB do Reino Unido e, o meio de cultura utilizado para o cultivo foi o *Postgate C* (16) modificado. Já o meio empregado nos ensaios para avaliação da CIM foi o meio *Baar* modificado (21).

A avaliação da CMI foi feita utilizando cupons metálicos de aço carbono AISI 1020 para os todos os ensaios. Estes corpos de prova (CP's) foram lixados em ambas as faces com lixas d'água de 100 a 600 mesh de granulometria, lavados com água destilada e álcool etílico, e secos com jato de ar quente. Em seguida, foram acondicionados em dessecador até o momento da imersão no meio de cultura.

Para os ensaios de quantificação microbiana, foram utilizados CPs com dimensões em torno de (2 x 1,8 x 0,1) cm e área média de aproximadamente 8 cm<sup>2</sup> (Figura 1A). Já nos ensaios eletroquímicos foram utilizados corpos de prova com dimensões em torno de (1,8 x 1,7 x 0,1) cm e área média exposta de aproximadamente 3 cm<sup>2</sup> (Figura 1B). Neste caso, foi soldado um fio condutor de cobre em cada cupom metálico para proporcionar a conexão elétrica do sistema e embutidos em resina epóxi para garantir que apenas uma de suas faces ficasse exposta ao meio corrosivo.

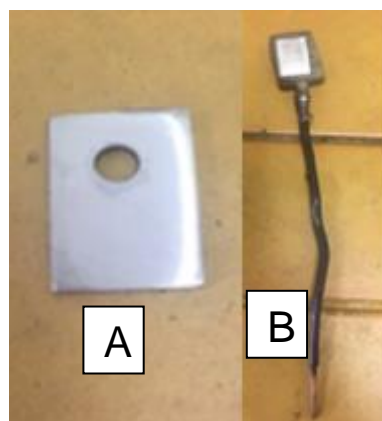


Figura 1 - (A) Corpo de prova utilizado para os ensaios de quantificação microbiana e (B) Corpo de prova utilizado para os ensaios eletroquímicos

Neste estudo, foram utilizados diversos biocidas em concentrações específicas (Tabela 1), selecionadas de acordo com a literatura.

Tabela 1- Concentração dos biocidas nos ensaios

Biocida	Concentração	Referência
Glutaraldeído Sigma Aldrich®	0,01% m/v	(18)
Lúpulo Magnum Alemão Safra 2015 HBC®	40,43 g/L	(20)
Extrato de Nim Sempre Verde®	4% m/v	(15)
Óleo de Alho Alhonat Nativa®	3% m/v	(17)

Todos os ensaios de quantificação microbiana, de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) e microscopia eletrônica de varredura foram realizados após a imersão dos CP's nos meios corrosivos e permanência por períodos de tempo pré-determinados.

Os ensaios foram conduzidos em frascos de 100 mL de capacidade (biorreatores) contendo 80 mL do meio *Baar* modificado e inoculado a 10% v/v. No caso dos ensaios de quantificação microbiana, os CP's foram imersos assepticamente e foram fixados no reator por meio de um fio de nylon. Já nos demais ensaios, o CP com o fio de cobre (eletrodo) foi imerso no biorreator. Vale lembrar que o meio foi purgado com nitrogênio com a finalidade de garantir baixa concentração de oxigênio dissolvido.

A quantificação das BRS sésseis foi realizada por meio da técnica de número mais provável (NMP) em meio de cultura *Postgate E* modificado (16). Tal método é baseado em uma série de diluições sucessivas fornecendo uma estimativa de organismos vivos capazes de se multiplicar em meios líquidos (16). Vale lembrar que a presença de BRS é avaliada pela formação de um precipitado preto de sulfeto de ferro. A alíquota para este ensaio foi retirada diariamente com a finalidade de avaliar o crescimento das BRS sésseis ao longo do tempo. A equação (1) foi utilizada para calcular o % de redução de bactérias sésseis.

$$\% \text{ redução} = \frac{\text{Log (NMP biocida)} - \text{Log (NMP na ausência de biocidas)}}{\text{Log (NMP na ausência de biocidas)}} \quad (1)$$

Já para a EIE, os eletrodos foram imersos nos meios na ausência e na presença dos potenciais biocidas em tempos pré-determinados. O equipamento utilizado foi o potenciostato AUTOLAB modelo PGSTAT302N montando com três eletrodos: o eletrodo de trabalho de aço (Figura 1B), o eletrodo de referência de calomelano saturado (ECS) e um contra-eletrodo

de platina em formato espiral. Estes ensaios foram realizados numa faixa de frequência de  $10^5$  Hz a  $10^{-3}$  Hz, com amplitude de 10 mV, após estabilização do potencial de circuito aberto (OCP) por 30 minutos.

Para melhor interpretação dos dados de EIE, modelos de circuitos elétricos equivalentes foram utilizados com a finalidade de simular os efeitos das reações na interface eletroquímica e seus impactos, tanto na cinética das reações do eletrodo quanto no transporte de massa (19). Os circuitos elétricos equivalentes utilizados foram àqueles que constam na figura 2.

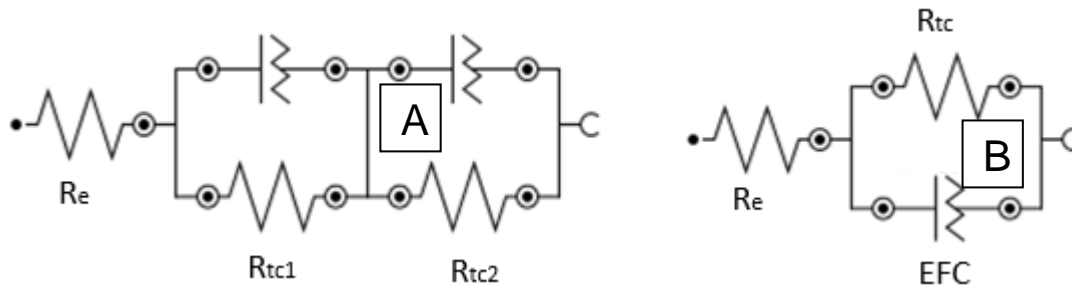


Figura 2 - Circuitos elétricos equivalentes utilizados para simular os dados experimentais obtidos para o extrato de nim e sem biocidas para 4 dias (A) e outros ensaios (B)

O software Nova 1.10 Metrohm Autolab® foi o utilizado com a finalidade de simular os dados da EIE. O valor da capacitância da dupla camada elétrica foi calculado a partir do elemento de fase constante por meio da Equação 2:

$$Cdce = (EFC)^{1/N} \times Rtc^{(1/N-1)} \quad (2)$$

No caso da microscopia eletrônica de varredura (MEV), os CP's foram imersos nos meios na ausência e na presença dos potenciais biocidas em tempos pré-determinados. As observações foram feitas após as etapas de fixação, lavagem e desidratação dos biofilmes presentes nas superfícies dos CP's. As etapas de fixação, lavagem e secagem foram realizadas conforme os padrões descrito por Fischer (6). Após a imersão no meio *Baar* modificado, os CPs foram retirados e lavados com água destilada. Em seguida, os CP's foram imersos durante uma hora numa solução de glutaraldeído e fosfato básico salino (PBS) com concentrações de, respectivamente, de 3,0% v/v e  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . Logo após este tempo, os CPs foram imersos em gradiente de etanol (25% v/v, 50% v/v, 75% v/v e 100% v/v) por 15 minutos cada e seco em estufa a  $37^\circ\text{C}$ . A análise foi realizada no MEV JEOL, modelo JSM G510 LV em alto vácuo, detector SEI, tensão de 5kV, com aumentos de imagens de 1100X.

## Resultados e discussão

O inóculo inicial utilizado possuía uma concentração de  $6,75 \times 10^6$  células/mL de uma cultura de *Desulfovibrio alaskensis*. A quantificação microbiana foi feita para as BRS aderidas ao substrato metálico (células sésseis) de 01 a 07 dias de incubação. Os resultados obtidos na quantificação dessas células são apresentados na Figura 3.

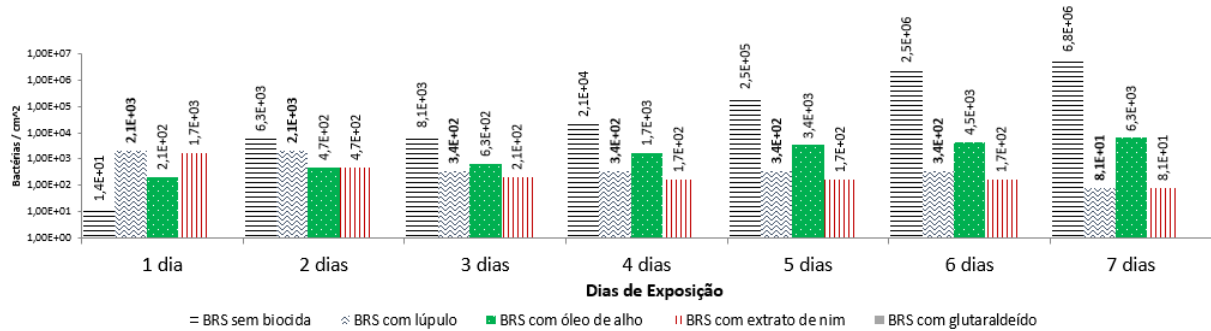


Figura 3 - Quantificação microbiana das BRS aderidas ao substrato metálico durante o período de incubação.

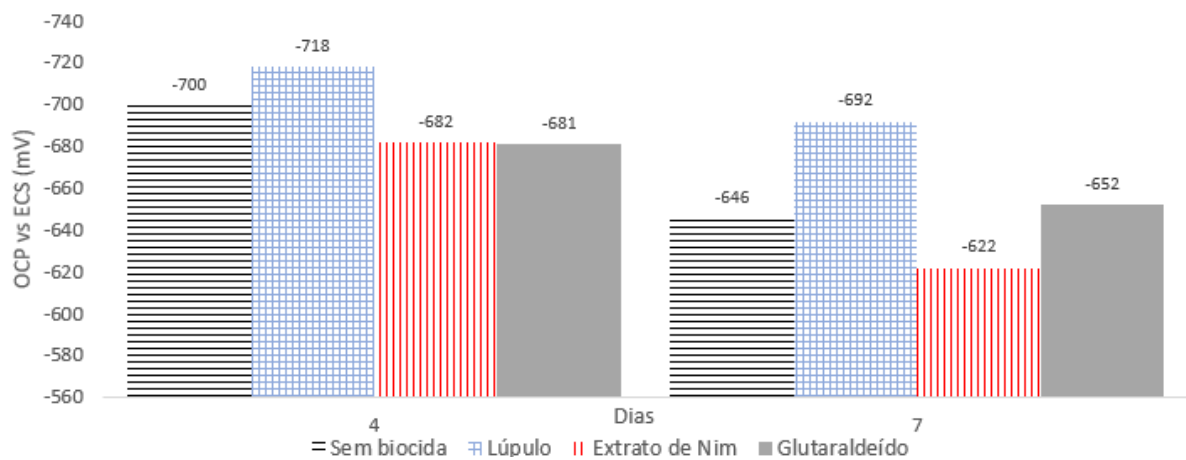
A quantificação microbiana com o óleo de alho para sete dias ( $6,3 \times 10^3$  células/cm<sup>2</sup>) é da mesma ordem de grandeza daquele obtido por Silva (17), que foi de  $4,5 \times 10^3$  células/cm<sup>2</sup>. No caso do extrato de nim, o resultado ao final de sete dias ( $8,1 \times 10^1$  células/cm<sup>2</sup>) está de acordo com o resultado obtido por Bholá (15) da ordem de  $10^2$  células/cm<sup>2</sup>. O mesmo autor obteve valores da ordem de  $10^7$  células/cm<sup>2</sup> na quantificação de bactérias sésseis na ausência de biocidas, similar àquela encontrado neste trabalho após sete dias ( $6,8 \times 10^6$  células/cm<sup>2</sup>). Logo, baseado na equação 1, calcula-se uma inibição de 72% do crescimento de bactérias sésseis nos meios contendo lúpulo e extrato de nim, ao final de sete dias.

De forma resumida, neste ensaio verificou-se uma redução significativa da população de BRS sésseis somente para os meios contendo os biocidas naturais extrato de nim e lúpulo. No caso do óleo de alho, é importante notar que, apesar do menor crescimento microbiano, em comparação com aquele verificado para o meio sem biocida, esta redução foi bem menor que a observada para os outros dois biocidas naturais testados. Portanto, os resultados obtidos pelos potenciais biocidas, extrato de nim e lúpulo, fizeram com que ambos fossem credenciados para um estudo mais aprofundado, visando a avaliação da biocorrosão do aço carbono, empregando ensaios eletroquímicos.

A Figura 4 exibe o potencial de circuito aberto (OCP) no aço carbono 1020 em água do mar sintética (pH = 7,6) medido para quatro e sete dias de imersão no meio. Conforme citado anteriormente, os CP's foram previamente incubados no meio *Baar* modificado, na ausência e na presença de biocidas. Todos os ensaios tiveram como resultado o deslocamento do OCP para valores mais positivos, ao final de sete dias. Na literatura, esse fenômeno possui a denominação de “enobrecimento” (8), o qual tem sido atribuído à reprodução e colonização das BRS na superfície do corpo de prova, formando o biofilme e alterando os processos eletroquímicos na superfície (9 e 7). O lúpulo apresentou valores de OCP mais negativos que o meio na ausência de biocida, em ambas as medições.

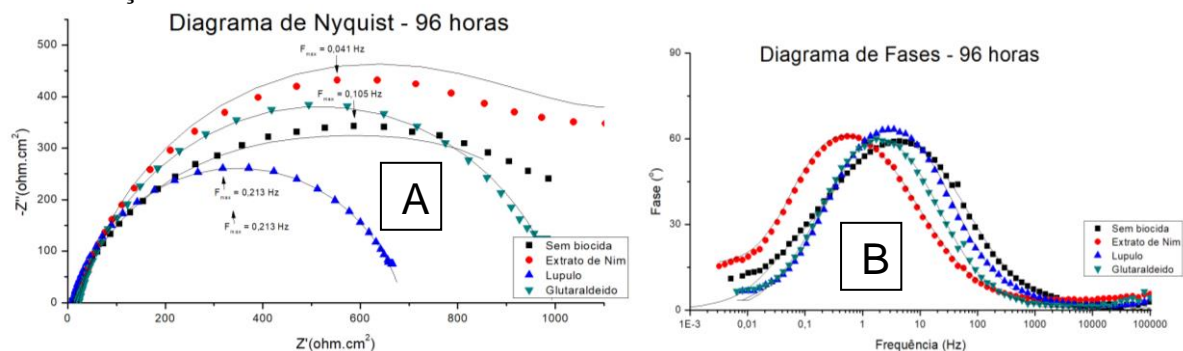
Figura 4 – Evolução do potencial de circuito aberto (OCP) para os tempos pré-determinados de ensaio em meios sem biocida ou contendo lúpulo, extrato de nim ou glutaraldeído

## Potencial de Circuito Aberto (mV)



A Figura 5 apresenta os resultados dos ensaios de EIE do aço carbono em água do mar, após 96h de exposição ao meio biótico, na ausência e presença dos biocidas estudados. Como principais resultados, verifica-se que o aço carbono exposto ao meio contendo extrato de nim apresentou a maior resistência ao processo corrosivo, devido à presença de um maior arco capacitivo, quando comparado com os outros ensaios. Já o diagrama de fase (Figura 4B) mostra claramente que o aço carbono exposto ao meio com extrato de nim apresenta um deslocamento do máximo do ângulo de fase para menores valores de frequência, sugerindo o favorecimento do processo corrosivo.

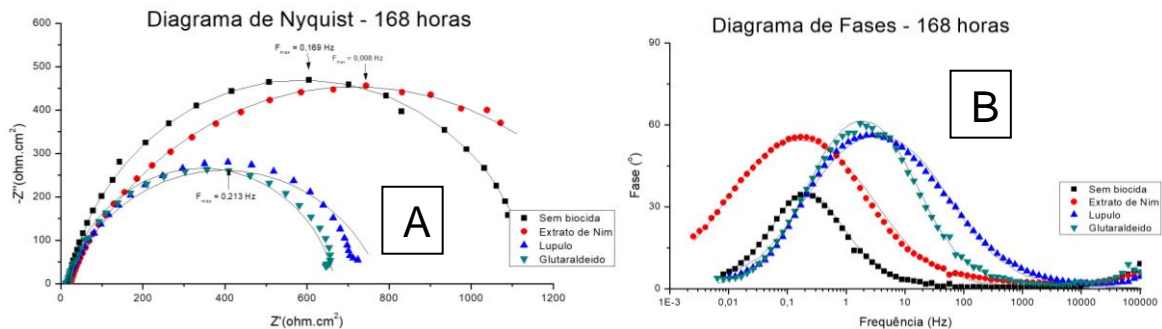
Figura 5 – Diagrama de Nyquist (A) e Diagrama de Fases (B) para os ensaios com 96 horas de incubação



A Figura 6 apresenta os resultados dos CP's avaliados por EIE em água do mar, após 168h de exposição ao meio biótico, na ausência e presença dos biocidas estudados. Entre todos os CP's estudados, aquele previamente incubado no meio contendo extrato de nim apresentou o maior arco capacitivo, indicando maior resistência ao processo corrosivo. Pode-se perceber, visualmente, por meio da Figura 6A, o início de um arco indutivo no ensaio com glutaraldeído, o que é geralmente associado à corrosão por pite (12).

Contudo, o diagrama de fase da Figura 6B mostra que o máximo do ângulo de fase obtido para o CP incubado em extrato de nim e na ausência de biocidas foi deslocado para menores frequências, indicando a presença de um filme com características condutoras e, portanto, favorecedor do processo corrosivo (13).

Figura 6 – Diagrama de Nyquist (A) e Diagrama de Fases (B) para os ensaios com 168 horas de incubação



A Tabela 2 mostra os resultados simulados para os circuitos elétricos equivalentes obtidos com os dados experimentais de EIE obtidos.

Tabela 2: Resultados de simulação dos dados de EIE usando os Circuitos Elétricos Equivalentes da Figura 2

Tempo	Parâmetro	Sem biocida	Glutaraldeído	Lúpulo	Extrato de Nim
96 horas	$R_e (\Omega)$	3,19	8,14	2,66	4,12
	$R_{tc} (\Omega \text{ cm}^2)$	1057,875	994,41	678,395	2821,31
	$C_{dce} (\mu\text{F cm}^{-2})$	3,23E-3	2,59E-3	4,60E-3	1,87E-2
	N	0,972	0,833	0,836	0,767
168 horas	$R_e (\Omega)$	7,00	5,99	4,09	7,31
	$R_{tc} (\Omega \text{ cm}^2)$	1138,48	652,935	771,4	1395,9
	$C_{dce} (\mu\text{F cm}^{-2})$	4,87 E-3	3,44E-3	3,79E-3	4,99E-2
	N	0,879	0,872	0,757	0,735

Observa-se na Tabela 2 maiores valores de  $R_{tc}$  para os CP's imersos nos meios com extrato de nim e na ausência de biocidas, sugerindo que a presença do extrato de nim, independentemente do tempo de incubação, ocasionou uma maior resistência ao processo corrosivo. Quando se compara os ensaios com quatro e sete dias, não se verificou relação direta do aumento de tempo com o aumento do parâmetro  $R_{tc}$ . Mesmo apresentando um maior valor de resistência à transferência de carga, o filme formado no ensaio com extrato de nim é mais condutor do que os outros, uma vez que os valores de capacitância da dupla camada elétrica ( $C_{dce}$ ) na presença do extrato de nim são superiores. Já a presença de lúpulo e do glutaraldeído formaram filmes menos condutores ao final de sete dias que àqueles formados nos ensaios na ausência de biocidas.

Os ensaios de MEV foram realizados para os CP incubados por 4 e 7 dias nos meios contendo a cultura de BRS e os biocidas glutaraldeído, extrato de nim e lúpulo. As Figuras 7 a 9 apresentam as micrografias da superfície desses CP com aumento de 1100 vezes. É possível verificar que a presença de diferentes biocidas originou morfologias distintas na superfície dos CP's. Nota-se no CP imerso no meio contendo o biocida glutaraldeído por 4 dias (Figura 7A), a presença de um filme não homogêneo, com poucos aglomerados de massa celular, acima de um substrato aparentemente com sua morfologia inalterada. Porém, após 07 dias de incubação visualizou-se uma sensível diminuição desses aglomerados.

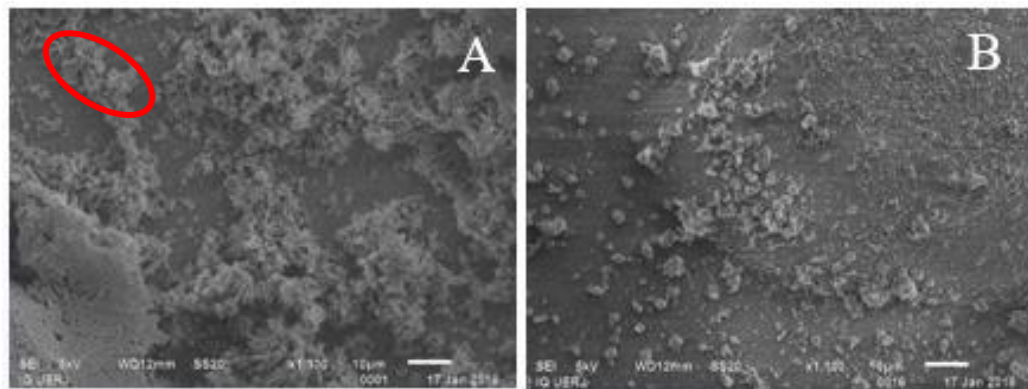


Figura 7 – Micrografia da superfície do aço carbono 1020 para os ensaios com o glutaraldeído após 04 dias (A) e 7 dias (B) de incubação

O CP imerso no meio contendo o extrato de nim por 4 dias apresenta um biofilme volumoso e poroso conforme mostra a Figura 8A. Verifica-se também uma diminuição de aglomerados na superfície do CP com ou aumento do tempo de exposição ao meio contendo extrato de nim (Figura 8B).

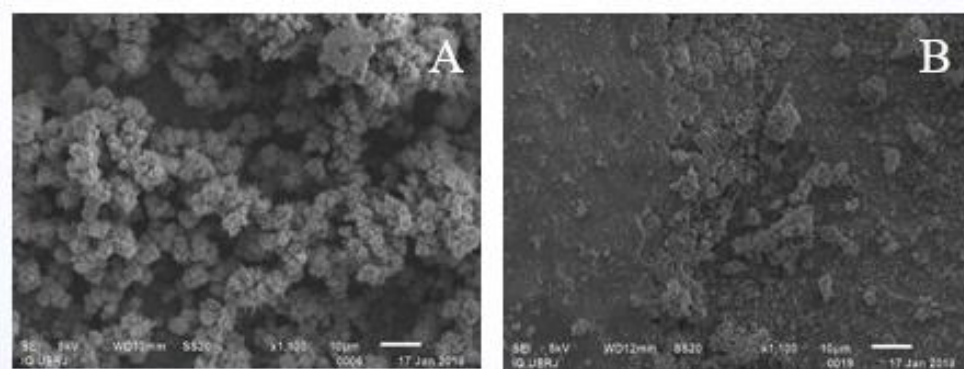


Figura 8 – Micrografia da superfície do aço carbono 1020 para os ensaios com o extrato de nim após 04 dias (A) e 7 dias (B) de incubação

Já o CP exposto ao meio contendo o lúpulo por 4 dias (Figura 9A) mostrou um biofilme volumoso e mais compacto do que aquele obtido para o meio com extrato de nim. Assim como o CP incubado na presença do extrato de nim (Figura 8B), observa-se uma diminuição de massa celular com o passar do tempo, mas em menor quantidade (Figura 9B). Este resultado já era esperado, pois sabe-se que o lúpulo funciona melhor na inibição do crescimento de bactérias gram-positivas, ao contrário das bactérias redutoras de sulfato (14).



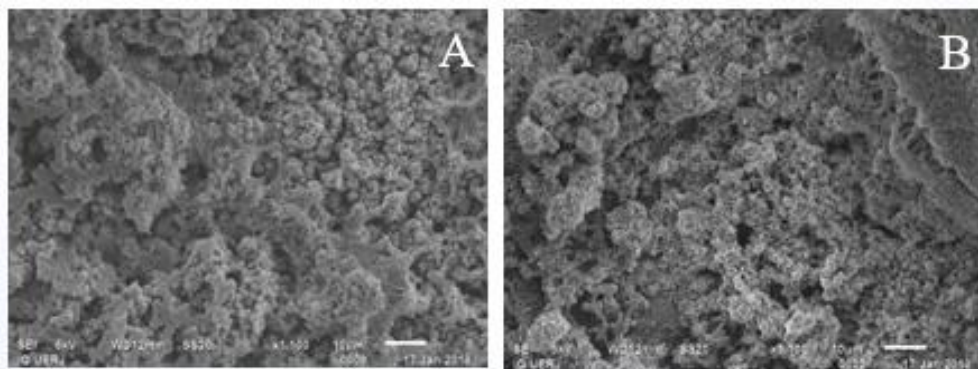


Figura 9 – Micrografia da superfície do aço carbono 1020 para os ensaios com o lúpulo após 04 dias (A) e 7 dias (B)

### Conclusões

Os biocidas lúpulo e extrato de nim apresentaram os melhores resultados na inibição do crescimento microbiano. A adição de lúpulo ao meio manteve o OCP relativamente inalterado, minimizando o ‘enobrecimento’ do CP. Isto sugere uma adsorção prévia dos compostos do lúpulo, dificultando a formação do biofilme e, conseqüentemente, diminuindo a quantidade de bactérias sésseis ao longo do tempo. Os resultados mostram que o extrato de nim foi o biocida mais eficiente quando se analisa o parâmetro de resistência à transferência de carga ( $R_{tc}$ ), mas formou um filme mais condutor na superfície do CP. Baseado nesses resultados, pode-se sugerir a adição inicial de biocidas naturais, com a finalidade de formar biofilmes na superfície e, posteriormente, adicionar o glutaraldeído numa concentração inferior à estudada na presente dissertação para inibir o crescimento bacteriano.

### Referências bibliográficas

- (1) GENTIL, V. **Corrosão**. Rio de Janeiro: LTC, 2011.
- (2) VIDELA, H. A. **Biocorrosão, Biofouling e Biodeterioração de Materiais**. São Paulo: Blucher, 2003.
- (3) CHENG, G. et al. Corrosion and Electrochemical Behavior of 316L Stainless Steel in Sulfate-reducing and Iron-oxidizing Bacteria Solutions. **Chinese Journal of Chemical Eng.**, 14, Dezembro 2006. 829-834.
- (4) MIRANDA, E. et al. Biocorrosion of carbon steel alloys by an hydrogenotrophic sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio capillatus* isolated from a Mexican oil field separator. **Corrosion Science**, 48, 2006. 2417-2431.
- (5) SUTTON, S. The Most Probable Number Method and Its Uses in Enumeration, Qualification and Validation. **Journal of Validation Technology**, 16, 2010. 35-38.
- (6) FISCHER, E. R. et al. Scanning Electron Microscopy. In: FISCHER, E. R., et al. **Current Protocols in Microbiology**. [S.l.]: John Wiley & Sons, Inc., 2012. Cap. 2.
- (7) DICKINSON, W. R. et al. Ennoblement of Stainless Steel by the Manganese-Depositing Bacterium *Leptothrix discophora*. **Applied and Environmental Microbiology**, 63, n. 7, Julho 1997. 2502-6.
- (8) LITTLE, B. J.; LEE, J. S.; RAY, R. I. The influence of marine biofilms on corrosion: A concise review. **Electrochimica Acta**, 54, 1 Dezembro 2008. 2-7.

- 
- (9) ALABBAS, F. M. et al. Microbial Corrosion in Linepipe Steel Under the Influence of a Sulfate-Reducing Consortium Isolated from an Oil Field. **Journal of Materials Engineering and Performance**, 22, n. 11, Novembro 2013. 3517-3529.
- (10) CLOETE, T. E.; JACOBS, L.; BROZEL, V. S. The chemical control of biofouling in industrial water systems. **Biodegradation**, Dordrecht, 9, Janeiro 1998. 23-27.
- (11) KING, R. A.; MILLER, J. D. A. Corrosion by the Sulphate-reducing Bacteria. **Nature**, 233, 15 Outubro 1971. 491-492.
- (12) ANNERGREN, I.; THIERRY, D.; ZOU, F. Localized Electrochemical Impedance Spectroscopy for Studying Pitting Corrosion on Stainless Steels. **Journal of The Electrochemical Society**, 144, 4 Abril 1997. 1208-1214.
- (13) GUNASEKARAN, G. et al. Influence of bacteria on film formation inhibiting corrosion. **Corrosion Science**, 46, 13 Janeiro 2004. 1953-1967.
- (14) LANGEZAAL, C. R.; CHANDRA, A.; SCHEFFER, J. J. Antimicrobial screening of essential oils and extracts of some *Humulus lupulus* L. cultivars. **Pharmaceutisch weekblad. Scientific edition**, 11 Dezembro 1992. 353-356.
- (15) BHOLA, S. et al. Microbial Corrosion in Linepipe Steel Under the Influence of a Sulfate-Reducing Consortium Isolated from an Oil Field. **Journal of Materials Engineering and Performance**, 22, n. 11, Novembro 2013. 3517-3529.
- (16) POSTGATE, J. R. **The Sulphate-Reducing Bacteria**. [S.l.]: Cambridge University Press, 1984.
- (17) SILVA, P. S. D. **Avaliação de biocidas no controle da corrosão microbiologicamente induzida do aço carbono 1020 por bactérias redutores de sulfato**. Rio de Janeiro: [s.n.], 2015.
- (18) LAVANIA, M. et al. Efficacy of natural biocide on control of microbial induced corrosion in oil pipelines mediated by *Desulfovibrio vulgaris* and *Desulfovibrio gigas*. **Journal of Environmental Sciences**, Pequim, 23, Agosto 2011. 1394-1402.
- (19) CARVALHO, L. A. D.; ANDRADE, A. R. D.; BUENO, P. R. Espectroscopia de impedância eletroquímica aplicada ao estudo das reações heterogêneas em ânodos dimensionalmente estáveis. **Química Nova**, São Paulo, v. 29 n. 4, 24 Março 2006. 796-804.
- (20) LEITE, I. R. et al. Evaluation of hop extract as a natural antibacterial agent in contaminated fuel ethanol fermentations. **Fuel Processing Technology**, 2013. 611-618
- (21) AMERICAN TYPE CULTURE COLLECTION (ATCC). Disponível em: <<https://www.atcc.org/~media/14184D242AA74EC48DF35188A5935BB4.ashx>>. Acesso em: 23 Novembro 2017.