



Mayara Mendonça de Andrade

**Análise da Cinética de Formação de Biofilmes em
Junta Soldada Longitudinal de Aço API 5L X80 em
Sistema Dinâmico**

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais e de Processos Químicos e Metalúrgicos da PUC-Rio como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Materiais e Processos Químicos e Metalúrgicos.

Orientador: Prof^a. Ivani de Souza Bott
Co-orientador: Walter Barreiro Cravo Junior

Rio de Janeiro
Abril de 2013



Mayara Mendonça de Andrade

**Análise da Cinética de Formação de Biofilmes em Junta
Soldada Longitudinal de Aço API 5L X80 em Sistema
Dinâmico**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia de Materiais e de Processos Químicos e Metalúrgicos do Departamento de Engenharia de Materiais do Centro Técnico Científico da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

Prof^a. Ivani de Souza Bott

Orientadora e Presidente

Departamento de Engenharia de Materiais– PUC-Rio

Prof. Walter Barreiro Cravo Junior

Co-orientador

PUC-Rio

Prof^a. Fátima Ventura Pereira-Meirelles

PUC-Rio

Dra. Flávia Maciel Fernandes Guedes

Centro de pesquisa e Desenvolvimento Leopoldo

Américo Miguês de Melo

Prof. José Eugênio Leal

Coordenador Setorial de Pós-Graduação do Centro Técnico

Científico da PUC-Rio

Rio de Janeiro, 05 de Abril de 2013.

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, do autor e do orientador.

Mayara Mendonça de Andrade

Graduou-se em Engenharia Química na Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio) em 2010.

Ficha Catalográfica

Andrade, Mayara Mendonça de

Análise da cinética de formação de biofilmes em junta soldada longitudinal de aço API 5L X80 em sistema dinâmico / Mayara Mendonça de Andrade ; orientador: Ivani de Souza Bott ; co-orientador: Walter Barreiro Cravo Junior. – 2013.

138 f. : il. (color.) ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Engenharia de Materiais, 2013.

Inclui bibliografia

1. Engenharia de materiais – Teses. 2. Corrosão induzida microbiologicamente (CIM). 3. Bactérias redutoras de sulfato (BRS). 4. Biofilmes. 5. API 5L X80. 6. Soldagem longitudinal. I. Bott, Ivani de Souza II. Cravo Junior, Walter Barreiro III. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Engenharia de Materiais. IV. Título.

CDD: 620.11

Para minha mãe, Maria de Lourdes dos Santos, minha
irmã, Moema Mendonça, e meu noivo, Bruno Martins,
pelo amor, carinho e ajuda ao longo desta trajetória.

Agradecimentos

A Deus que está presente sempre em minha vida e tornou possível essa conquista.

À minha mãe que sempre apoia as minhas decisões, dando força, carinho e conselhos e que está sempre disposta a me ajudar.

À minha família e amigos queridos que me ajudaram e auxiliaram nessa caminhada.

À minha orientadora Professora Ivani de Souza Bott pelo estímulo e parceria para a realização deste trabalho.

Ao meu co-orientador Walter Barreiro Cravo Junior que foi além do apoio técnico e profissional ao longo desta jornada.

Ao Instituto Brasileiro de Petróleo, Gás e Biocombustível (IBP) e à PUC-Rio pelos auxílios concedidos sem os quais este trabalho não poderia ter sido realizado.

Aos meus colegas da PUC-Rio, em especial, Karla e Dani que me auxiliaram e realizaram as análises da minha dissertação, além de terem me ajudado sempre que precisei e pelo carinho que sempre me trataram.

À equipe do Laboratório de Biocorrosão da PUC-Rio.

Ao professor Sidnei Paciornik e os Dr. Marcos Henrique pelo treinamento e pela confiança em mim depositada na utilização do microscópio óptico.

Aos laboratórios de Caracterização de águas, Caracterização de Combustíveis, Caracterização de Fluidos e Metrologia Dimensional situados na PUC-Rio pelo suporte técnico.

Aos professores que participaram da Comissão examinadora.

Resumo

Andrade, Mayara Mendonça de; Bott, Ivani de Souza. **Análise da Cinética de Formação de Biofilmes em Junta Soldada Longitudinal de Aço API 5L X80 em Sistema Dinâmico.** Rio de Janeiro, 2013. 138p. Dissertação de Mestrado – Departamento de Engenharia de Materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

A Corrosão Influenciada por Microrganismos (CIM) ou biocorrosão é reconhecida como um dos fenômenos causadores de inúmeros problemas nas indústrias de petróleo e gás, pois causa sérios danos ao material reduzindo sua vida útil. Neste trabalho foram avaliados os efeitos da biocorrosão caracterizado pela cinética de formação de biofilme em uma junta soldada longitudinal de aço API X80 obtida pelo processo de arco submerso (SAW). Durante o processo de soldagem forma-se uma região com características microestruturais distintas do metal de base e do metal de adição, denominada de zona termicamente afetada (ZTA). Assim essa zona poderá ter uma adesão microbiana diferenciada, visto que diferenças superficiais em um material, seja por natureza química ou física, podem limitar ou facilitar a adesão microbiológica. Por esse motivo foi realizado um estudo comparativo entre a cinética da formação de biofilme na junta soldada de um aço API X80. Também foi avaliada a influência das características físicas da superfície na adesão microbiana utilizando dois tipos de superfície: com a rugosidade original e polido com pasta de diamante com granulação de 6µm. Estas superfícies foram expostas ao fluido de processo (água do mar da Baía de Guanabara) em um sistema dinâmico. Foram realizadas tanto a quantificação microbiana, como também a quantificação dos ácidos orgânicos, sulfato depletado e ferro total para avaliar os nutrientes disponíveis e a bioatividade das reações bacterianas. A rugosidade superficial e o biofilme formado foram caracterizados morfolologicamente e a sua presença correlacionada com a formação de pites.

Palavras-chave

Corrosão Induzida Microbiologicamente (CIM); Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS); Biofilmes; API 5L X80; Soldagem Longitudinal.

Abstract

Andrade, Mayara Mendonça de; Bott, Ivani de Souza (Advisor). **Analyze of Biofilm Formation Kinetic on API 5L X80 Longitudinal Welds in Dynamic Flow System.** Rio de Janeiro, 2013. 138p. MSc. Dissertation – Departamento de Engenharia de Materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

The Microbiologically Influenced Corrosion (MIC) or bio-corrosion is recognized as one of the phenomena that cause a lot of problems in petroleum and gas industries, because it causes serious damages to the materials, reducing its life cycle. This study evaluated the effects of bio-corrosion characterized by the biofilm formation kinetics in longitudinal welds of API 5L X80 steel obtained by the process of submerged arc welding (SAW). During the welding process a region with different microstructural characteristics of the base metal and weld metal is formed, called heat affected zone (HAZ). Thus this zone can have a differentiated microbial adhesion since the different surfaces of a material, either by chemical and physical nature, can limit or facilitate the microbial adhesion. For this reason a comparative study of biofilm formation kinetic on the welded joint was conducted. The influence of the physical characteristics of the surface in microbial adhesion was also evaluated using two kinds of surface: steel with real roughness and steel polished with diamond paste with grain size of 6 μm . These surfaces were exposed to the process fluid (Guanabara Bay seawater) in a dynamic flow system. The microbial quantification was held. Organic acids, depleted sulfate and total iron were also measured to evaluate the available nutrients bioactivity of bacterial reactions. Surface roughness and biofilm were characterized morphologically and correlated with pitting formation.

Keywords

Microbiologically Influenced Corrosion (MIC); Sulfate Reducing Bacteria (SRB); Biofilms; API 5L X80; Longitudinal welding.

Sumário

1	Introdução	20
2	Objetivos	24
2.1	Objetivo geral	24
2.2	Objetivos específicos	24
3	Revisão Bibliográfica	25
3.1	Aços	25
3.1.1	Aços API	26
3.1.2	Processos de fabricação de tubos API ¹⁰	29
3.2	Processo de Soldagem	30
3.2.1	Zona Termicamente Afetada	31
3.3	Corrosão	34
3.3.1	Aspectos morfológicos e fenomenológicos da corrosão ⁹	36
3.3.1.1	Corrosão localizada por pites	39
3.3.2	Velocidade de reação nos processos corrosivos ⁹	41
3.3.3	Corrosão Influenciada por Microrganismos (CIM)	42
3.3.3.1	O meio ambiente	44
3.4	Propriedades estruturais de superfícies	46
3.4.1	Estrutura atômica, topografia e microscopia de superfícies metálicas ⁹	46
3.4.2	Rugosidade superficial ⁹	46
3.5	Microrganismos promotores da CIM	49
3.5.1	Microrganismos relacionados com o Enxofre ou seus Compostos ³	54

3.5.2 Bactérias Anaeróbias Heterotróficas Totais (BANHT)	55
3.5.2.1 Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS)	56
3.5.3 Bactérias Facultativas Heterotróficas Totais (BFHT)	61
3.5.3.1 Bactérias Precipitantes do Ferro (BPF)	61
3.6 Biofilme	63
3.6.1 Fisiologia e estrutura do biofilme	64
4 Materiais e Métodos	69
4.1 Materiais	69
4.2 Fluido de processo.	71
4.3 Meios de cultura e soluções utilizadas	71
4.3.1 Solução redutora	72
4.3.2 Meios de cultura para bactérias anaeróbias	72
4.3.2.1 Meio de cultura para bactérias anaeróbicas heterotróficas (BANHT)	73
4.3.2.2 Meio “Postgate”E modificado	74
4.3.3 Meios de cultura para bactérias aeróbias	75
4.3.3.1 Meio de cultura para as bactérias facultativas heterotróficas (BFHT)	76
4.3.3.2 Meio de cultura para as bactérias precipitantes do ferro (BPF)	76
4.4 Ensaio dinâmico	77
4.5 Detecção e quantificação microbiana	83
4.6 Análises por microscopia eletrônica	84
4.6.1 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) e Energia dispersiva de raios X (EDS)	84
4.6.2 Microscopia óptica – Contagem de pite	86
4.7 Análises químicas	87
4.7.1 Cromatografia iônica	87
4.7.2 Espectrometria de absorção atômica	88

4.8 Análise de Rugosidade	89
5 Resultados	90
5.1 Caracterização	90
5.1.1 Fluido de processo	90
5.1.2 Análise da Rugosidade Superficial	92
5.2 Cinética da formação de biofilme em superfícies com características microestruturais diferentes.	95
5.2.1 Quantificação microbiana	95
5.2.2 Análises químicas por cromatografia de íons	104
5.2.3 Análise de biofilmes por MEV e EDS	106
5.2.4 Análise da taxa de corrosão localizada por pites	113
5.3 Cinética da formação de biofilme em superfícies com diferentes graus de rugosidade	117
5.3.1 Quantificação microbiana	118
5.3.2 Análise de biofilmes por MEV e EDS	121
5.3.3 Análise da taxa de corrosão localizada por pites	127
6 Conclusão	130
7 Referências Bibliográficas	132

Lista de Figuras

Figura 1 – Desenvolvimento dos aços API. ¹⁶	27
Figura 2 – Processos de fabricação de tubos API. ¹⁰	30
Figura 3 – Técnica “Tendem-arc” com três eletrodos. ¹⁹	31
Figura 4 – Regiões da Zona Termicamente Aferada. ²¹	32
Figura 5 – Esquema das formas de corrosão mais comuns. ²⁶	37
Figura 6 – Esquema da corrosão microbiológica sob uma superfície metálica. ³⁴	43
Figura 7 – Esquema da interface bioeletroquímica entre o metal e a solução contendo depósitos biológicos e inorgânicos. ⁸	44
Figura 8 – Rugosidade média. Parâmetro de amplitude R_a . ⁹	47
Figura 9 – Parâmetro R_q . ⁹	48
Figura 10 – Relação entre a temperatura ótima de crescimento para os diversos tipos de bactérias. ⁴⁵	50
Figura 11: Relação entre colônias de microrganismos redutores de sulfato. ³	55
Figura 12 – Metabolismo das bactérias redutoras de sulfato. O carbono orgânico é utilizado como doador de elétrons na redução do íon sulfato. ⁸	57
Figura 13 – Imagem de MEV da bainha helicoidal da <i>Gallionella ferrugínea</i> . ⁶¹	62
Figura 14 – Esquema da formação de um micro ambiente em biofilme de consórcio bacteriano. Adaptado de Edestron. ³⁴	64
Figura 15 – Estrutura do biofilme em diferentes fases. ⁶⁵	65
Figura 16 – Esquema da adsorção de moléculas orgânicas em uma superfície formando um filme condicionante. Adaptado de Edestron ³⁴ .	66
Figura 17 – Esquema representativo da sequência das etapas de adesão microbiana em um substrato sólido. Adaptado de Edestron ²⁴ .	66

Figura 18 – Esquema de uma bactéria envolta por substâncias poliméricas extracelulares. ³⁴	68
Figura 19 – Vista de topo e lateral do corpo de prova (dimensões em milímetros).	69
Figura 20 – Imagem dos corpos de prova das três condições de superfície. (a) Metal de base (MB); (b) Junta soldada (JS); (c) Metal de base polido (MBP).	70
Figura 21 – Esquema simplificado do sistema dinâmico (looping).	78
Figura 22 – Haste com os corpos de prova inseridos.	78
Figura 23 – Sistema dinâmico com os corpos de prova inseridos.	79
Figura 24 – Esquema representativo da posição dos corpos de prova nos três ensaios.	79
Figura 25 – Direção do fluxo do fluido em relação à superfície a ser analisada dos corpos de prova. Fluxo tangencial à superfície dos cupons.	80
Figura 26 – Ensaio dinâmico após 24 horas de exposição dos corpos de prova ao fluido de processo.	81
Figura 27 – Retirada dos corpos de prova para as análises.	81
Figura 28 – Coleta de amostra para quantificação das bactérias planctônicas.	82
Figura 29 – (a) Etapa de dessalinização; (b) Etapa de desidratação.	85
Figura 30 – Perfil de rugosidade do cupom de teste do aço API X80 antes do ensaio dinâmico.	93
Figura 31 – Perfil de rugosidade do cupom de teste da junta soldada antes do ensaio dinâmico.	93
Figura 32 – Perfil de rugosidade do cupom de teste do aço API X80 polido com pasta de diamante com granulidade de 6µm antes do ensaio dinâmico.	93
Figura 33 – Aço API X80 com rugosidade original. (a) Imagem da região do cupom analisada; (b) representação da topografia da superfície analisada.	94
Figura 34 – Junta soldada. (a) Imagem da região do cupom analisada; (b) representação da topografia da superfície analisada.	94
Figura 35 – Aço API X80 polido. (a) Imagem da região do cupom analisada; (b) representação da topografia da superfície analisada.	94

Figura 36 – Quantificação das bactérias anaeróbias planctônicas do grupo das BANHT.	97
Figura 37 – Quantificação das bactérias anaeróbias planctônicas do grupo das BRS	98
Figura 38 – Quantificação das bactérias aeróbias planctônicas do grupo das BFHT.	98
Figura 39 – Quantificação das bactérias aeróbias planctônicas do grupo das BPF.	99
Figura 40 – Quantificação do grupo das BANHT sésseis nos corpos de prova do metal de base (MB) e da junta soldada (JS).	102
Figura 41 – Quantificação do grupo das BRS sésseis nos corpos de prova do metal de base (MB) e da junta soldada (JS).	102
Figura 42 – Quantificação do grupo das BFHT sésseis nos corpos de prova do metal de base (MB) e da junta soldada (JS).	103
Figura 43 – Quantificação do grupo das BPF sésseis nos corpos de prova do metal de base (MB) e da junta soldada (JS).	103
Figura 44 – Análise química do sulfato realizada no fluido de processo ao longo do tempo.	105
Figura 45 – Imagens dos corpos de prova antes do ensaio. (a) Junta soldada. (b) Metal de base. (1) Aumento de 100x, (2) Aumento de 500x.	106
Figura 46 – Análise de EDS realizada no corpo de prova do metal de base antes da exposição ao fluido.	107
Figura 47 – Análise de EDS realizada no corpo de prova da junta soldada antes da exposição ao fluido.	107
Figura 48 – Imagens dos corpos de prova após 24 horas de exposição. (a) Junta soldada. (b) Metal de base. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.	108
Figura 49 – Imagens dos corpos de prova após 48 horas de exposição. (a) Junta soldada. (b) Metal de base. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.	108
Figura 50 – Imagens dos corpos de prova após 192 horas (8 dias) de exposição. (a) Junta soldada. (b) Metal de base. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.	109
Figura 51 – Imagens dos corpos de prova após 354 horas de exposição. (a) Junta soldada. (b) Metal de base. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.	109

Figura 52 – Imagens dos corpos de prova após 546 horas de exposição. (a) Junta soldada. (b) Metal de base. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.	110
Figura 53 – Imagens dos corpos de prova após 840 horas (35 dias) de exposição. (a) Junta soldada. (b) Metal de base. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.	110
Figura 54 – Análise de EDS do biofilme formado no corpo de prova da junta soldada após 840 horas (35 dias) de exposição.	113
Figura 55 – Densidade de pites nos corpos de prova da junta soldada (JS) e do metal de base (MB) ao longo dos ensaios.	115
Figura 56 – Imagem de microscopia óptica da superfície da junta soldada após 840 horas de exposição para a contagem de pites.	116
Figura 57 – Imagem de microscopia óptica da superfície do metal de base após 840 horas de exposição para a contagem de pites.	117
Figura 58 – Quantificação do grupo das BANHT sésseis nos corpos de prova do aço API X80 polido (MBP) e aço API X80 com superfície original (MB).	119
Figura 59 – Quantificação do grupo das BRS sésseis nos corpos de prova do aço API X80 polido (MBP) e aço API X80 com superfície original (MB).	120
Figura 60 – Quantificação do grupo das BFHT sésseis nos corpos de prova do aço API X80 polido (MBP) e aço API X80 com superfície original (MB).	120
Figura 61 – Quantificação do grupo das BPF sésseis nos corpos de prova do aço API X80 polido (MBP) e aço API X80 com superfície original (MB).	121
Figura 62 – Imagens dos corpos de prova do aço API X80 polido antes do ensaio. (1) Aumento de 100x, (2) Aumento de 500x.	122
Figura 63 – Análise de EDS realizada no corpo de prova do aço API X80 polido antes da exposição ao fluido.	122
Figura 64 – Imagens dos corpos de prova após 24 horas de exposição. (a) Aço API X80 polido com pasta de diamante de 6 µm (b) Aço API X80 com superfície original. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.	123
Figura 65 – Imagens dos corpos de prova após 48 horas de exposição. (a) Aço API X80 polido com pasta de diamante	

de 6 µm (b) Aço API X80 com superfície original. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.	123
Figura 66 – Imagens dos corpos de prova após 192 horas de exposição. (a) Aço API X80 polido com pasta de diamante de 6 µm (b) Aço API X80 com superfície original. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.	124
Figura 67 – Imagens dos corpos de prova após 354 horas de exposição. (a) Aço API X80 polido com pasta de diamante de 6 µm (b) Aço API X80 com superfície original. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.	124
Figura 68 – Imagens dos corpos de prova após 546 horas de exposição. (a) Aço API X80 polido com pasta de diamante de 6 µm (b) Aço API X80 com superfície original. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.	125
Figura 69 – Imagens dos corpos de prova após 840 horas de exposição. (a) Aço API X80 polido com pasta de diamante de 6 µm (b) Aço API X80 com superfície original. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.	125
Figura 70 – Densidade de pites nos corpos de prova do aço API polido (MBP) e do aço API com a superfície original ao longo dos ensaios	128
Figura 71 – Imagem de microscopia óptica da superfície do aço API X80 polido após 840 horas de exposição para a contagem de pites.	129

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Classificação dos aços API para dutos. ¹⁴	27
Tabela 2 – Composição química do aço API 5L X80. ⁷²	70
Tabela 3 – Composição da solução redutora para 1L.	72
Tabela 4 – Composição da água do mar sintética para 10L.	73
Tabela 5 – Composição do meio de cultura para BANHT para 1L.	74
Tabela 6 – Composição do meio de cultura Postgate E modificado para 1L.	75
Tabela 7 – Composição do meio de cultura para BFHT para 1L.	76
Tabela 8 – Composição da solução salina para BFHT para 1L.	76
Tabela 9 – Composição do meio de cultura para BPF para 1L.	77
Tabela 10 – Composição da solução diluidora para BPF para 1L.	77
Tabela 11 – Classificação da atividade bacteriana dos anaeróbios. Fonte: Gaylarde e Videla. ²⁹	84
Tabela 12 – Caracterização química da água coletada na Baía de Guanabara.	91
Tabela 13 – Quantidade de ferro total da água coletada na Baía de Guanabara.	91
Tabela 14 – Avaliação da rugosidade superficial dos corpos de prova antes dos ensaios.	92
Tabela 15 – Quantificação das bactérias planctônicas no fluido de processo.	97
Tabela 16 – Quantificação das bactérias sésseis nos corpos de prova.	99
Tabela 17 – Análises químicas de cromatografia realizadas no fluido de processo.	105
Tabela 18 – Densidade de pites nos corpos de prova da junta soldada e do metal de base durante a cinética de formação de biofilmes.	114

Tabela 19 – Avaliação da taxa de corrosão localizada por pites nos corpos de prova da junta soldada e do metal de base.	116
Tabela 20 – Quantificação das bactérias sésseis nos corpos de prova.	119
Tabela 21 – Densidade de pites nos corpos de prova do aço API polido e do aço API com a superfície original durante a cinética de formação de biofilmes.	127
Tabela 22 – Avaliação da taxa de corrosão localizada por pites nos corpos de prova do aço API polido e do aço API com a superfície original.	129

Lista de Abreviaturas

ATP – Adenosina Trifosfato

AMP – Adenosina Monofostato

BANHT – Bactérias Anaeróbias Heterotróficas Totais

BFHT – Bactérias Facultativas Heterotróficas Totais

BPF – Bactérias Precipitantes do Ferro

BRS – Bactérias Redutoras de Sulfato

CIM – Corrosão Influenciada por Microrganismos

JS – Junta Soldada

MB – Metal de Base

MBP – Metal de Base Polido

NACE – National Association of Corrosion Engineers

NMP – Número Mais Provável

UFC – Unidade Formadora de Colônia

Se eu pudesse deixar algum presente a você, deixaria aceso o sentimento de amar a vida dos seres humanos. A consciência de aprender tudo o que foi ensinado pelo tempo a fora. Lembraria os erros que foram cometidos para que não mais se repetissem. A capacidade de escolher novos rumos. Deixaria para você, se pudesse, o respeito àquilo que é indispensável: Além do pão, o trabalho. Além do trabalho, a ação. E, quando tudo mais faltasse, um segredo: o de buscar no interior de si mesmo a resposta e a força para encontrar a saída.

Mahatma Gandhi

1

Introdução

A água possui um importante papel na produção de petróleo e gás sendo utilizada em diferentes etapas do processo e em grande quantidade. Estima-se que o volume de água utilizado pode exceder até dez vezes o volume de produção do petróleo ao longo da vida produtiva de um poço.¹ A água de produção (água usada na produção de petróleo) contém tanto microrganismos que podem induzir a corrosão em vários componentes metálicos empregados na produção do petróleo quanto os nutrientes necessários para o crescimento dos mesmos. A composição química dessa água varia de acordo com o local onde o óleo é extraído (tipo de campo), a qualidade e a idade do campo, além do procedimento utilizado na extração desse material.² Essa água também possui característica tóxica, pois contém contaminantes, como H₂S, microrganismos e seus metabólitos, sólidos em suspensão.³

A exploração *offshore* (fora da costa) de petróleo está em pleno crescimento no Brasil e essa atividade sofre com a corrosão microbiana em virtude do desenvolvimento do *souring* biogênico (produção excessiva de H₂S) por causa da utilização excessiva de água do mar como instrumento de recuperação secundária do petróleo.^{3, 4}

A corrosão é definida como um desgaste sofrido pelo material, principalmente os metais, motivado por ações químicas e eletroquímicas que alteram a vida útil do mesmo.⁵ Há inúmeros fatores que causam este problema, sendo que a Corrosão Induzida por Microrganismos (CIM) constitui um mecanismo importante de degradação, que vem sendo estudada com mais frequência ao longo dos anos.

Os microrganismos presentes no meio ambiente se aderem na superfície do material formando um agregado de células. O acúmulo de microrganismos e dos seus metabólitos, que forma o biofilme, causa sérios danos ao material, podendo iniciar ou acelerar o processo de corrosão, reduzindo a vida útil do material.⁶ Os microrganismos, ao se aderirem na superfície do material, formam um complexo

consórcio microbiano denominado de biofilme alterando a interface dessa superfície. O biofilme é composto de diferentes microrganismos que coexistem e os inúmeros mecanismos de biocorrosão estão intimamente ligados a diversidade fisiológica que há nessa estrutura.

A biocorrosão, ou CIM, é um mecanismo de deterioração acelerada na superfície dos materiais ocasionada pela presença de biofilme aderido à sua superfície. Considerada um mecanismo importante na degradação de componentes industriais, sendo um grande desafio para as empresas de petróleo e gás porque causa desgaste nas superfícies dos oleodutos, tanques de armazenamento, dutos de transmissão, oferecendo grande risco ambiental e econômico. Apesar de haver muitos estudos sobre o mecanismo da CIM, ainda há incertezas de como os microrganismos contribuem para o processo corrosivo. A teoria mais aceita é a de que os microrganismos funcionam como catalisadores no processo de corrosão.⁵

Foi sugerido por Gaines, em 1910, que as bactérias poderiam ser responsáveis por processos corrosivos em estruturas metálicas enterradas. Porém a CIM só foi reconhecida como um fator preponderante em diferentes tipos de processos corrosivos somente nas últimas décadas.⁷

Esse mecanismo de corrosão microbiana é resultado de interações, que muitas vezes ocorrem de forma sinérgica, entre a superfície metálica, produto de corrosão abiótico e as células bacterianas e seus metabólitos. Ainda há muita discussão sobre que componente abiótico ou biótico possui maior relevância para as reações corrosivas.

A corrosão microbiana é causada por inúmeros agentes, sendo as bactérias redutoras de sulfato (BRS) o principal grupo que está relacionado à CIM em superfícies ferrosas. São microrganismos que causam corrosão em substratos metálicos e isso é resultado de reações oxidativas iniciadas ou mantidas pelas atividades deles, produzindo assim metabólitos corrosivos.

As células de BRS são capazes de crescer em diferentes ambientes, como oleodutos, e geram produtos provenientes do seu metabolismo à base de sulfeto que provocam odor, toxicidade e corrosão. São seres unicelulares, procariontes, isto é, não possuem núcleo individualizado (carioteca), de vida livre. São aerotolerantes, em forma de vibrião (a maioria das espécies) e vivem em colônias. Essas bactérias, que participam do ciclo natural do enxofre, reduzem o íon sulfato (SO_4^{-2}) presente no ambiente a sulfeto (S^{-2}), contribuindo para a formação do H_2S ,

que é bastante nocivo para o ser humano e corrosivo. Os sulfetos produzidos por esse grupo é corrosivo para o ferro e suas ligas.⁸

Há outros grupos de bactérias associados a metais que participam do mecanismo de corrosão em meios aquáticos ou terrestres, tais como, as bactérias precipitantes do ferro (BPF), as bactérias oxidantes do enxofre, bactérias redutoras de ferro, entre outras.

Há inúmeros meios de se controlar o desgaste causado pela biocorrosão, como a utilização de biocidas, por exemplo. No entanto essa é uma medida mitigadora, que agride o meio ambiente, apesar de se mostrar eficiente em alguns casos. Ocasionalmente, em longo prazo, a única alternativa é a substituição do material danificado, o que indica que os tratamentos utilizados para combater a corrosão não tiveram eficiência, acarretando graves consequências para as indústrias. Verificou-se que a corrosão por microrganismos também ocorre em materiais mais resistentes ao desgaste, como aços inoxidáveis e titânio, aumentando o interesse das indústrias que sofrem com esse problema em compreender o mecanismo da CIM, a interação entre a superfície do material e as bactérias.⁹

Nos dias atuais, por causa da grande demanda de produtos oriundos do petróleo, há a tendência das indústrias utilizarem tubos com grandes diâmetros, com espessuras de parede menores e que operem sob alta pressão, possibilitando assim um aumento na produtividade e na competitividade das empresas nas linhas de dutos. . No entanto, os dutos das linhas de transmissão estão sujeitos a altas concentrações de contaminantes, como H_2S , além de serem submetidos a grandes pressões, tornando estes materiais mais susceptíveis à corrosão.

Os tubos utilizados nas linhas de transmissão podem ter junções ao longo de seu comprimento (solda longitudinal) ou junções entre os tubos, unindo-os (solda circunferencial). Alguns estudos têm reportado que grande parte dos incidentes nas indústrias petrolíferas está vinculada aos defeitos ocasionados nas juntas soldadas.

A soldagem é um procedimento de junção de materiais utilizando o processo de fusão. Nele o material de adição, que tem as propriedades semelhantes ao material de base, é aquecido e colocado no pequeno espaço entre os materiais que serão unidos. Ao ocorrer essa deposição, as superfícies que entraram em contato com ele sofrem deformação formando assim uma zona com instabilidade, denominada de zona termicamente afetada (ZTA). Essa região da

ZTA possui características diferentes do material de base e do material de adição, podendo assim ter uma adesão microbiana diferenciada, então é necessário verificar os efeitos da formação de biofilme em junta soldada e também estudar a sua cinética de formação.¹⁰

2

Objetivos

2.1

Objetivo geral

Devido aos problemas causados nas indústrias de petróleo e gás pela formação de biofilme (CIM) em sistemas de escoamento, este trabalho tem como objetivo avaliar as interações entre os microrganismos causadores da CIM encontrados no meio e na superfície de uma junta soldada longitudinal de um tubo API X80.

2.2

Objetivos específicos

Para realizar tais objetivos pretende-se realizar os seguintes passos:

- Estudar a cinética da formação de biofilme na superfície da junta soldada de um aço API X80 e do metal de base (MB).
- Estudar a cinética da formação de biofilme em superfícies com rugosidade diferente.
- Realizar a caracterização química através da análise de ferro total por absorção atômica, análise de ânions e ácidos orgânicos por cromatografia de íons.
- Realizar caracterização metalográfica da superfície e do biofilme através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia óptica (MO).
- Realizar análises microbiológicas através da quantificação de alguns grupos microbianos, como: bactérias anaeróbias totais (BANHT), bactérias redutoras de sulfato (BRS), bactérias facultativas heterotróficas totais (BFHT) e bactérias precipitantes do ferro (BPF).
- Avaliar o processo corrosivo ocasionado pelo metabolismo dos microrganismos utilizando contagem dos pites.
- Caracterizar as diferentes superfícies antes e após a exposição ao fluido.

3

Revisão Bibliográfica

A revisão bibliográfica elucida inicialmente a importância do aço, a fabricação da junta soldada estudada e a diferença microestrutural presente na ZTA (zona termicamente afetada). Uma das questões abordadas na presente dissertação é a importância tanto da rugosidade quanto do tipo de microestrutura presente no aço, pois alguns autores afirmam que as características das superfícies podem influenciar a adesão microbiana.

3.1

Aços

Os aços são ligas metálicas constituídas principalmente por ferro e carbono, variando a quantidade de carbono entre 0,008% a 2,11% aproximadamente. Podem conter também a presença de outros elementos provenientes do processo de fabricação ou por adição intencional com a finalidade de obter as propriedades desejadas.¹¹

Há diversos tipos de aço comercializados e os sistemas de classificação agrupam os aços de acordo com características semelhantes, como, por exemplo, a composição química, forma do produto, método de formação, nível de resistência, como especificado pelas normas ASTM, API, entre outras.^{12, 13}

Os aços utilizados neste estudo pertencem à classe API.

3.1.1 Aços API

São aços classificados de acordo com a norma API (American Petroleum Institute) em função da sua composição química, resistência mecânica e aplicação.⁸ São aços microligados com baixo teor de carbono que podem conter pequenas quantidades de elementos de liga como, manganês (até 2%), Alumínio, Vanádio, Titânio, entre outros geralmente em quantidades inferiores a 0,1%. Podem apresentar microestrutura do tipo ferrita-perlita, na sua forma original mais simples e possuem maior resistência mecânica quando comparados a outros aços de baixo carbono, apresentam boa soldabilidade.¹³

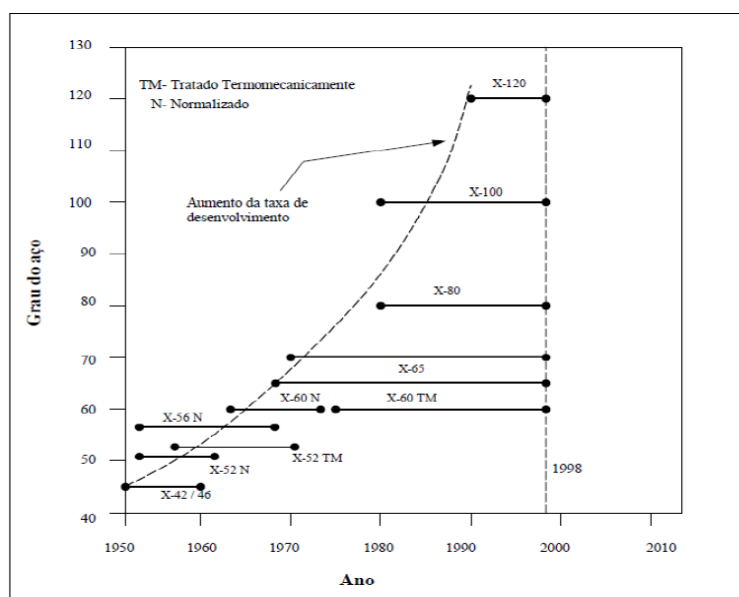
As indústrias de petróleo utilizam para a fabricação de tubos para as linhas de transmissão o aço API de especificação 5L (Specification for Line Pipe Steel) que podem ser sem costura “seamless” e com costura “welded”.¹⁴ Essa especificação é importante para se manter um padrão para o tipo de material que deve ser utilizado para a confecção de tubos que serão utilizados pelas indústrias de petróleo no transporte de substâncias como, petróleo, gás e água.

Os tubos para serem considerados como API devem atender a algumas condições, como, os requisitos de propriedades mecânicas, peso, composição química entre outras.¹⁴ Eles podem ser divididos nas seguintes classificações: grau A25, A, B e X, sendo o primeiro e o último seguidos de dois dígitos. O limite de escoamento é a propriedade que determina o grau dos tubos e os dígitos representam resistência mínima ao escoamento (SMYS – Specified Minimum Yield Strength). Na tabela 1 está disposta a classificação dos aços API 5L.

Tabela 1 – Classificação dos aços API para dutos.¹⁴

Grau	Resistência ao Escoamento, Mínimo		Resistência a Tração, Mínimo	
	psi	MPa	psi	MPa
A25	25.000	172	45.000	310
A	30.000	207	48.000	331
B	35.000	241	60.000	414
X42	42.000	290	60.000	414
X46	46.000	317	63.000	434
X52	52.000	359	66.000	455
X56	56.000	386	71.000	490
X60	60.000	414	75.000	517
X65	65.000	448	77.000	531
X70	70.000	483	82.000	561
X80	80.000	552	90.000	621

Esses aços vêm evoluindo ao longo do tempo sofrendo modificações em suas composições químicas e em seus processos de fabricação para atender a demanda crescente por novos produtos com baixo custo de instalação e que requeiram menos reparos, como pode ser observado na figura 1.¹⁵

Figura 1 – Desenvolvimento dos aços API.¹⁶

Esse progresso tem ajudado a produzir tubos com peso cada vez mais reduzido, como observado em uma indústria de tubulações do Canadá que mostrou que houve uma redução de 14% no peso quando utilizaram o aço com grau X70 quando comparado com o grau X60 e uma redução de 12,5% quando usaram um com grau X80 quando comparado com o grau X70.¹⁶

A busca do desenvolvimento de novos aços com maiores resistências e com propriedades mecânicas melhores está sendo intensificada por causa da demanda econômica mundial que tem como objetivo fabricar tubos com grandes diâmetros, mas com espessuras menores mantendo a mesma pressão de trabalho com a finalidade de redução os custos de produção dos dutos de transmissão. A redução da espessura das paredes favorece também a quantidade de solda utilizada na soldagem, diminuindo-a.¹⁶

Aços com graus ainda mais resistentes, equivalentes as novas classes API 5L X100 e 120, com limite de escoamento de 690 e 830 MPa respectivamente, vem sendo desenvolvidos nas últimas décadas.¹⁷ Entretanto observa-se que há uma demora considerável a fim de que os avanços metalúrgicos sejam utilizados comercialmente.

Atualmente o meio mais fácil, seguro e econômico de transportar matérias-primas por longas distâncias, como gás natural, petróleo entre outras é por dutos de transmissão. Por essa razão a utilização de aços mais resistentes, como os aços API X70 e API X80, são os mais indicados para a produção desses tubos longos e com grandes diâmetros, no entanto dependerá da relação entre custo e benefício de produção e manutenção. Por esta razão foi escolhido um aço da classe API X80 para a realização dos estudos da formação de biofilme.

Os tubos utilizados para o transporte de gás e derivados do petróleo constituem uma aplicação de muita responsabilidade, assim sendo é necessário ter extrema cautela na escolha do material que será adotado na fabricação desses tubos. Sendo assim, para utilizar um novo material devem ser feitas experiências e testes preliminares para determinar as formas mais seguras de aplicação deste material.¹⁸

3.1.2

Processos de fabricação de tubos API ¹⁰

A fabricação dos tubos utilizados em dutos de transmissão é feita conforme a norma API. Há atualmente inúmeros processos industriais de fabricação de tubos que podem produzir dois tipos de tubos: os denominados de sem costura (“seamless”) que, por não possuírem a etapa de soldagem em sua produção, não possuem cordão de solda ao longo de seu comprimento e aqueles que incluem a soldagem como etapa de processo, chamados de com costura (“welded”).¹⁰

O processo de fabricação U-O-E é comumente utilizado para a produção de tubos API a partir de chapas metálicas, onde, inicialmente, ocorre uma deformação a frio moldando-as em forma de “U” e em seguida em forma de “O” como pode ser observado na figura 2. Nesse momento as partes laterais são fechadas e forma-se um chanfro longitudinal. Na etapa seguinte é feito o ponteamto das faces das chapas moldadas em forma de “O” com a finalidade de que o diâmetro não sofra alterações durante a soldagem. Em seguida, é realizada a soldagem final pelo processo de arco submerso (SAW – Submerged Arc Welding) onde o primeiro passe é feito internamente e o segundo passe na parte externa. Ao longo do processo são realizados ensaios não destrutivos com a finalidade de garantir que não tenha defeitos na junta soldada. Após esta etapa, os tubos são submetidos a uma expansão (E) através da aplicação de pressão interna a fim de ajustar o diâmetro dos tubos às especificações das normas API 5L. Posteriormente, há novos ensaios não destrutivos para garantir a ausência de defeitos na junta soldada. Após o término do processo, são feitas inspeções no dimensionamento e pesagem dos tubos.^{10, 15}

Os corpos de provas confeccionados para os ensaios deste trabalho foram feitos a partir de tubos de aço API 5L X80 com costura com metal de adição produzidos pelo processo U-O-E.

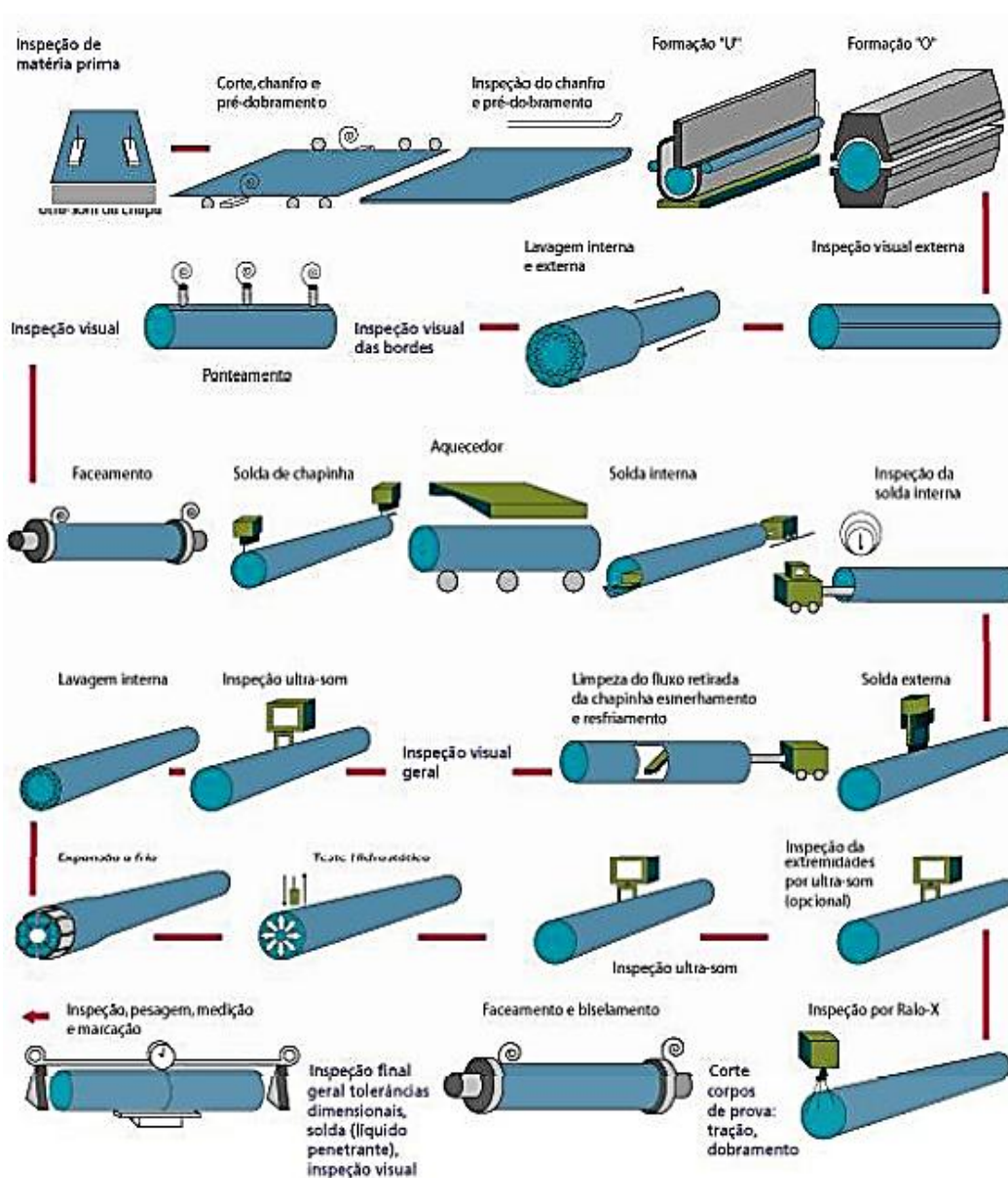


Figura 2 – Processos de fabricação de tubos API.¹⁰

3.2 Processo de Soldagem

Os tubos com costura que são utilizados em dutos de transmissão pelas indústrias de petróleo e gás são produzidos pelo processo de soldagem por arco submerso, utilizando a técnica de arcos múltiplos (“tandem-arc”). Nele o arco elétrico é formado entre a ponta do eletrodo e o metal de base, então ele nem a poça de fusão ficam visíveis, pois o arco fica submerso.¹⁰

A técnica de arcos múltiplos (“tandem-arc”) utiliza dois ou mais arames que são alimentados no cabeçote de soldagem para uma mesma poça de fusão, mas cada eletrodo forma um arco elétrico por cabeçote que é controlado separadamente e possuem fonte de energia separada, independente, como se observa na figura 3. Nela os outros arcos se iniciam sob a poça de solda liquefeita formada pelo primeiro arco, formando uma única poça, fazendo com que a poça de soldagem se solidifique de maneira uniforme. Os eletrodos são controlados de maneira independente para produzir um efeito sobre o preenchimento do cordão de solda. Na “tandem arc” com três eletrodos, o primeiro arco controla a penetração, o segundo é de fundamental importância para o controle do perfil do cordão de solda, apesar de ter menos efeito na penetração e o terceiro controla o perfil e o acabamento do cordão de solda.¹⁹

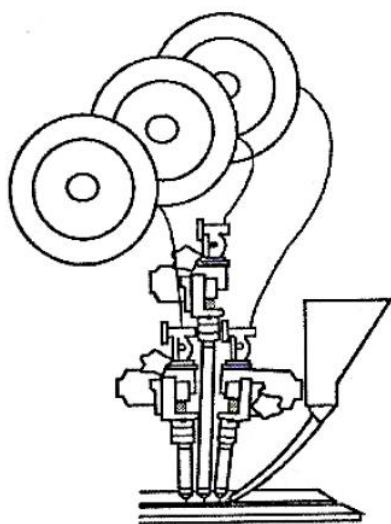


Figura 3 – Técnica “Tandem-arc” com três eletrodos.¹⁹

3.2.1 Zona Termicamente Afetada

A zona termicamente afetada pelo calor (ZTA) é uma consequência do processo de soldagem e possui, na maioria das vezes, propriedades mecânicas diferentes do metal de adição e do metal de base em virtude da formação de uma microestrutura diferenciada, como, por exemplo, a formação de regiões de grãos grosseiros. Esta região do metal de base está adjacente à poça de fusão sendo uma

área que sofre, durante a soldagem, um rápido ciclo térmico de aquecimento e resfriamento e que dependendo do grau de severidade dos ciclos térmicos apresentará diferentes características metalúrgicas e propriedades mecânicas.²⁰

A ZTA de um aço formada a partir de um processo de soldagem por fusão geralmente é fragmentada em algumas regiões que variam em função da temperatura atingida durante o ciclo térmico da soldagem, como pode ser observado na figura 4.

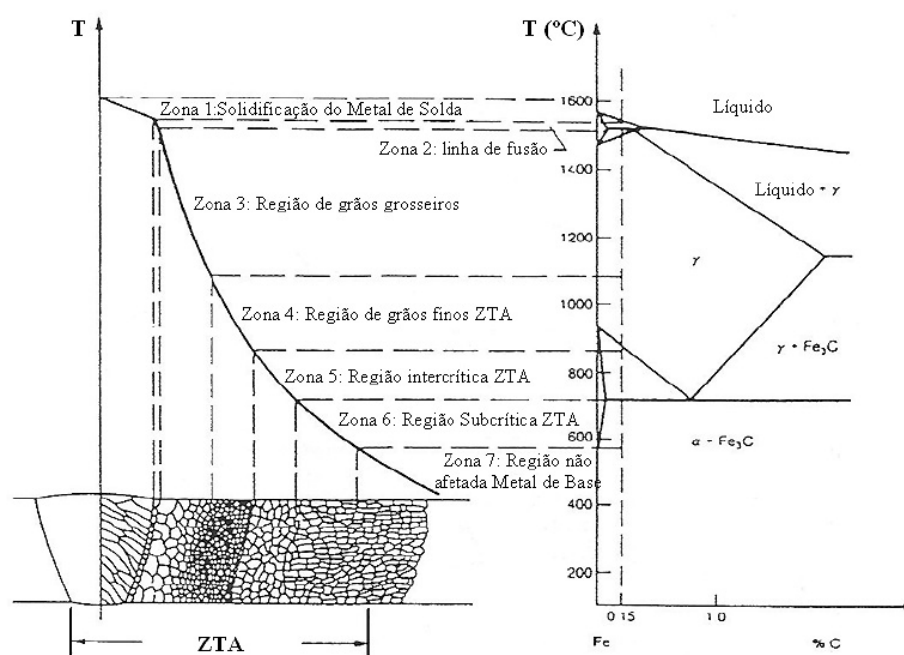


Figura 4 – Regiões da Zona Termicamente Aferada.²¹

- Região de grãos grosseiros (ZTA-GG ou RGG): Essa região é caracterizada por uma temperatura de pico na faixa de 1100°C a 1450°C em que o crescimento de grão austenítico inicia quando a zona atinge uma temperatura superior à de grão grosseiro (1100°C aproximadamente). Nela o tamanho do grão austenítico varia em função da natureza do ciclo térmico de soldagem e da temperatura de formação do grão grosseiro e a microestrutura resultante dependerá do tamanho do grão austenítico e da transformação de fase que é função da taxa de resfriamento na junta soldada.^{10, 20, 22}

- Região de grão fino (ZTA-GF ou RGF): Nessa região o crescimento do grão austenítico é relativamente lento, pois a temperatura do ciclo térmico está na faixa entre 900°C e 1100°C obtendo assim um tamanho de grão austenítico pequeno. A transformação austenítico-ferrita tende a formar estruturas de grão ferrítico-perlítico ou ferrítico-bainítico durante o resfriamento, visto que devido à elevada quantidade de contornos de grão promove a formação de ferrita de contorno de grão enriquecendo a austenita excedente em carbono que poderá se transformar em perlita ou bainita, dependendo da taxa de resfriamento, do teor de carbono e da quantidade de elementos de liga presentes no metal de base.^{10, 22}

- Região Intercrítica (ZTA-IC ou RI): Caracterizada por ter uma temperatura de ciclo térmico na faixa de 700°C a 900°C. É uma zona relativamente estreita em que as transformações parciais são levadas ao final. Nos aços que são ferrítico-perlíticos as ilhas de ferrita, durante o aquecimento, são rapidamente transformadas em austenitas enriquecidas de carbono, que no resfriamento pode-se transformar em perlita, bainita superior, martensita autorevenida ou martensita de alto carbono.^{10, 22}

- Região Subcrítica (ZTA-SC ou RS): É uma região, onde a temperatura do ciclo térmico fica abaixo de 700°C, e normalmente não há mudança microestrutural notável, exceto no caso em que pode ocorrer a degradação da perlita laminar a partículas esferoidais de cementita (Fe_3C).^{10, 22}

Verificar como as diferentes características desta zona podem influenciar o comportamento da junta soldada quanto à resistência à corrosão por pites ou da ocorrência da formação de biofilme é uma das questões objetivadas neste trabalho.

3.3 Corrosão

A corrosão é um processo resultante da interação entre o material e o meio em que está inserido, causando uma deterioração do mesmo por ação química ou eletroquímica do meio, podendo estar aliada ou não a esforços mecânicos. É um processo espontâneo que modifica constantemente as características dos materiais, fazendo com que estes deixem de satisfazer as especificações quanto ao desempenho e durabilidade, reduzindo sua vida útil.⁵

A escolha de um material que será utilizado na produção de equipamentos ou instalações deve ser adequada ao meio e às condições de operação. O material selecionado deverá ter uma resistência maior à ação degradante do meio corrosivo sem perder as suas propriedades mecânicas e as especificações de fabricação.¹⁰

Os processos corrosivos são considerados reações em fase heterogêneas ou reações eletroquímicas irreversíveis que ocorrem na maioria das vezes na superfície metálica que entra em contato com o meio corrosivo. As reações de oxidação-redução são todas reações químicas em que há transferência de elétrons, onde os metais tendem a ceder elétrons sofrendo oxidação, agindo como redutor, deteriorando-se, enquanto as substâncias presentes no meio corrosivo recebem esses elétrons sofrendo redução, atuando como agente oxidante. Pode-se dizer assim que os processos de corrosão são degenerativos para os metais, progredindo através da superfície.⁵

A corrosão em materiais metálicos ocorre através de complexas interações envolvendo diversos fatores, tais como, a composição química e microestrutural do metal ou liga, a composição química do ambiente e alguns parâmetros físicos, como temperatura, pressão, forças mecânicas, como choque, fricção ou esforços de tração, processos de convecção e irradiação.

É importante observar que a resistência à corrosão que uma liga metálica possui não é apenas uma propriedade intrínseca da mesma, mas sim uma propriedade do sistema em que está inserido, pois nota-se que a liga metálica pode sofrer o processo de corrosão quando inseridos em alguns ambientes ocasionando assim a perda de material, mas permanecem estáveis em outros meios. Assim, alguns aspectos, como, composição química e estrutural das superfícies e de suas

interfaces, além do estudo do comportamento eletroquímico e alguns ambientes são importantes para se conhecer os processos de corrosão.⁹

Alterações indesejadas no material original tais como, perda de massa, modificações estruturais ou variações químicas são ocasionadas pela corrosão tornando-o inadequado a uso, pois deixam de atender às normas específicas e às funções que deveria desempenhar. Ligas metálicas são utilizadas na fabricação de diversas estruturas que ficam enterradas, submersas ou aéreas, como, por exemplo, oleodutos, gasodutos, minerodutos, cabos de comunicação e de energia elétrica, tanque de armazenamento de combustíveis entre outros. Essas instalações necessitam de grandes investimentos então se exige dos materiais que os formam alta durabilidade e resistência à corrosão.^{5, 23}

Os problemas de corrosão são frequentes e podem ocorrer em diversas atividades, tais como, nas indústrias químicas, petroquímica, de construção civil, na medicina, entre outras causando inúmeras perdas econômicas, que podem ser diretas, quando associadas aos custos de substituição de peças e indiretas, relacionadas à paralisação acidental ou para limpeza da produção, perda de produto, causado pela corrosão de tubos, contaminação dos produtos.⁵

Durante esse processo os metais reagem com substâncias inorgânicas presentes no meio corrosivo, tais como O_2 , H_2S , CO_2 entre outros, para a formação principalmente de óxidos, forma em que os metais são originalmente encontrados na natureza. A corrosão pode acontecer em diversos materiais metálicos ou não, como em ligas ferrosas, não ferrosas, em plásticos, cerâmicos ou até em concretos.¹⁰

A junta soldada, formada durante o processo de soldagem, é uma região mais susceptível à ocorrência de corrosão preferencial porque o metal de adição utilizado possui composição química que difere do metal de base apesar de se empregar um consumível similar e por isso pode haver a possibilidade de ocorrência de uma corrosão galvânica na região da solda quando esta for exposta a meio aquoso.²⁴ No entanto esse tipo de corrosão ocasionará problemas significativos quando o metal de solda for anódico em relação ao metal de base e se eles possuírem potenciais muito diferentes.²⁴

Observa-se que as regiões próximas ao metal de solda são sempre mais susceptíveis de sofrerem precipitações em virtude dos mais variados ciclos térmicos que são submetidos, favorecendo assim processos de corrosão localizada,

principalmente a corrosão intergranular.²⁴ Nota-se também que a presença de descontinuidades superficiais favorece a corrosão por frestas, caso a solda não seja usinada após o processo de soldagem. Os mecanismos de corrosão por fragilização pelo hidrogênio e corrosão localizada do tipo corrosão sob tensão são favorecidos nas proximidades da solda em virtude de terem nível maior de tensões residuais, mesmo sob condições de junta aliviada.²⁴

3.3.1

Aspectos morfológicos e fenomenológicos da corrosão⁹

A corrosão acontece por diferentes formas e o conhecimento das mesmas é de fundamental importância para se estabelecer medidas adequadas de proteção. As formas de corrosão manifestam-se primeiramente na superfície do material, quando este é submetido a algum meio corrosivo, e a maioria pode ser visualmente detectável por causa da aparência corrosiva que se forma. Então na maioria dos casos de corrosão utiliza-se como ferramenta de detecção a observação visual. Em outros essa ferramenta de detecção é insuficiente, sendo necessária a utilização de recursos tecnológicos que possibilitam a observação da superfície agredida.^{9, 10, 25}

As principais formas de corrosão podem ser: uniforme, por placas, alveolares, puntiforme, intergranular ou intercristalina, intragranular ou transcristalina, empolamento por hidrogênio, entre outras. A figura 5 mostra as principais formas de corrosão e a aparência que a superfície adquire.

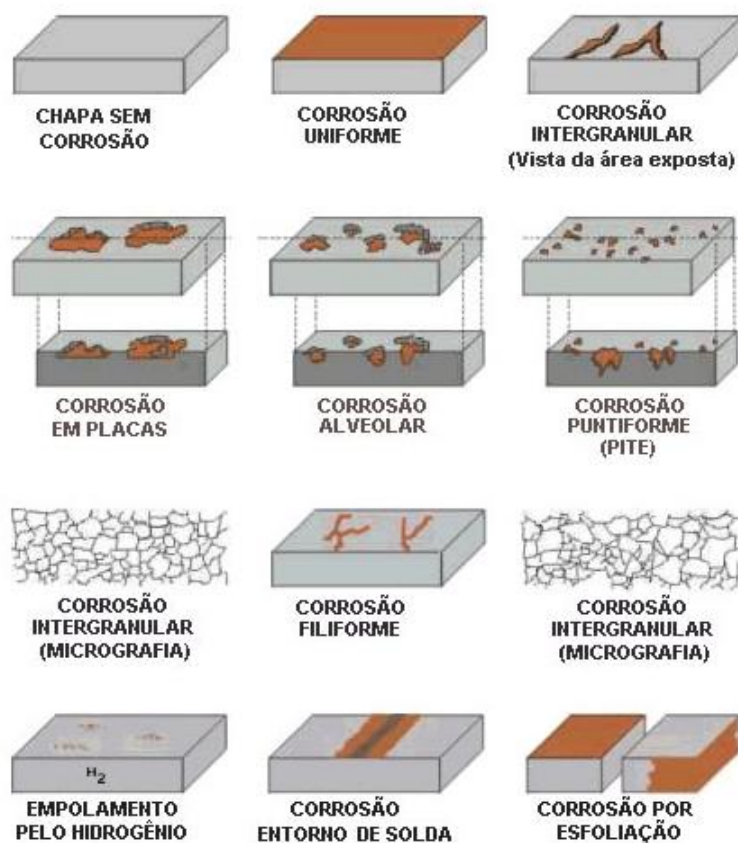


Figura 5 – Esquema das formas de corrosão mais comuns.²⁶

A corrosão uniforme ocorre em toda a superfície causando perda do material de maneira uniforme, diminuindo a sua espessura quando exposto a ambiente corrosivo. Seu controle é fácil, mas a redução da espessura do material causa a diminuição de sua resistência a esforços, como as tensões, podendo levar a rupturas, isto é, a vida útil do material é reduzida e ele se torna susceptível a possíveis falhas e risco de acidentes. Comum em metais que não formam películas protetoras. Um exemplo desse processo ocorre quando o metal é exposto a meios contendo ácidos fortes.^{9, 10, 25}

A corrosão intergranular acontece quando há um caminho preferencial para a corrosão na região dos contornos de grão. Esse processo ocorre a partir de um ataque seletivo nos contornos de grão. Essa forma de corrosão está, na maioria das vezes, relacionada a tratamentos térmicos que irão conduzir a precipitação de fase nos contornos de grão. Acontece com os aços inoxidáveis austeníticos sensibilizado quando expostos a meios corrosivos.^{5, 9, 26, 27}

A forma de corrosão por placas ocorre em algumas áreas da superfície metálica e não em toda a sua extensão, formando assim placas com escavações. As placas formadas se desprendem progressivamente, sendo comum em metais que inicialmente formam uma película protetora e que ao se tornarem espessas, perdem aderência e se desprendem expondo a superfície metálica, sem a proteção, a um novo ataque.^{5, 25}

O processo de corrosão alveolar ocorre na superfície do material causando um desgaste de forma localizada, produzindo sulcos ou elevações parecidos com alvéolos, com fundo arredondado e profundidade normalmente menor do que o seu diâmetro. Acontece frequentemente em metais que forma películas semi protetoras ou quando há corrosão sob depósito, como, por exemplo, no caso da corrosão por aeração diferencial.^{5, 26, 28}

A corrosão puntiforme acontece em pequenas áreas na superfície do material formando pites que são cavidades que possuem a profundidade maior que o seu diâmetro e fundo em forma angulosa. O desgaste ocorre com alta intensidade, mas de forma bastante localizada, sendo frequente em metais que produzem películas protetoras, geralmente passivas, que são destruídas em pontos localizados sobre a ação de certas substâncias agressoras. Esses locais se tornam ativos, possibilitando assim uma corrosão muito mais acentuada. A ação de microrganismos presentes no meio ambiente também favorece essa forma de corrosão, como será abordada com mais detalhes a seguir.^{5, 9, 26}

A forma de corrosão filiforme acontece sob filmes de revestimento, principalmente em superfícies pintadas com um filme fino de tinta orgânica com 0,1 mm de espessura aproximadamente. Os filamentos formados não são profundos e possuem direções variadas, mas não se interceptam visto que se cogita a possibilidade de que o produto de corrosão, no estado coloidal, possui carga positiva, o que justificaria a repulsão.^{27, 28}

A corrosão em torno do cordão de solda é mais comum em aços inoxidáveis não estabilizados ou com teores de carbono superiores a 0,03% e o processo de corrosão ocorre de forma intergranular.²⁸

Diferentes fatores podem ser utilizados para se obter uma classificação para as diversas formas de corrosão, como: as causas ou mecanismos que podem ser por aeração diferencial, eletrolítica, galvânica, empolamento, fragilização por hidrogênio, microbiológica entre outras; fatores mecânicos que podem ser

corrosão sob tensão, corrosão sob fadiga, corrosão por atrito, corrosão associada à erosão; meio corrosivo que podem ser corrosão atmosférica, corrosão pela água do mar, corrosão pelo solo, corrosão induzida por microrganismos (CIM).

3.3.1.1

Corrosão localizada por pites

A corrosão por pites é uma das formas mais perigosas em que a corrosão pode-se apresentar, pois não há perda significativa da massa do metal e nem a formação de um volume considerável de produto de corrosão, no entanto os danos promovidos por esse processo são bastante relevantes visto que o ataque se localiza na superfície metálica e se propaga até o interior do metal e muitas das vezes acaba transpassando-o. Caso esse processo ocorra em um duto de transmissão ou um reservatório, por exemplo, ocasionará o vazamento de produtos para o meio ambiente, poluindo-o. A perfuração é resultado de uma quebra da película passiva de forma localizada em pontos fracos na superfície metálica, como, inclusões, acúmulo de discordâncias, contornos de grãos e quando o meio corrosivo penetra essa película encontra o metal desprotegido e caso esta película passiva fique incapaz de repassivar devido a alguns fatores, como a química do ambiente em que o metal está inserido, a corrosão continuará ocorrendo resultando na formação dos pites.⁵

Os fatores ambientais, tais como, temperatura, pH pressão, composição do eletrólito são importantes para determinar o processo de formação de pites nas superfícies metálicas. Há também outros fatores que influenciam essa formação e que são tão importantes quanto os ambientais, tais como a composição química das ligas metálicas, as propriedades eletrônicas e a espessura do filme passivo de óxido.²⁹

Essa forma de corrosão, que é altamente localizada, acontece em metais que estão apassivados e somente ocorre em meios que possuem potenciais de eletrodo iguais ou superiores a um determinado valor, denominado de potencial de pite. Por esse motivo esse potencial começou a ser utilizado como um parâmetro básico para a avaliação da resistência de um metal a esse tipo de agressão. Investiga-se

também o mecanismo desse tipo de corrosão localizada analisando a dependência desse parâmetro com as diferentes variáveis existentes do metal e do meio corrosivo.³⁰ Esse potencial de pite, segundo Wolynech, pode ser determinado por diversas técnicas de polarização eletroquímica, sendo as mais comuns as que utilizam a técnica potenciométrica ou potenciodinâmica e a técnica potenciostática.³⁰

De acordo com Wolynech outros parâmetros podem ser utilizados a fim de avaliar a resistência à corrosão por pite e a temperatura crítica de pite é um parâmetro que possui bastante aceitação.³⁰ Para obter essa temperatura realiza-se um ensaio onde se aplica um potencial anódico a um corpo de prova, em temperatura ambiente, imerso em uma solução de interesse. Eleva-se gradualmente a temperatura até observar o início da corrosão localizada, indicado por um significativo aumento do valor da corrente que está sendo continuamente monitorada. Essa temperatura em que há uma elevação da corrente é a temperatura crítica de pite e seu valor vem sendo utilizado para classificar, de maneira quantitativa, os materiais em relação à sua resistência à corrosão por pite.

Conforme Shi et al³¹ os modelos conceituais descrevem o processo de corrosão por pite em três etapas: inibição, pites metaestáveis e pites ativos. No entanto, o mecanismo exato do início da formação dos pites não está aparentemente definido. Sabe-se que a corrosão por pites necessita da presença de ânions como, cloretos e agentes oxidantes, como o oxigênio ou íons férricos e durante o processo forma-se uma célula de corrosão entre o pite, que terá função anódica, e a superfície passiva ao redor do pite, que terá função catódica.⁹ A presença de biofilme e microrganismos na superfície metálica também favorecerá a corrosão por pites.

3.3.2

Velocidade de reação nos processos corrosivos⁹

Em um processo corrosivo, para que as reações tenham viabilidade termodinâmica, elas dependem de alguns fatores, como os potenciais químicos, as concentrações dos componentes que fazem parte do processo, a temperatura e pressão a que são submetidos. Sabe-se que não há como determinar a velocidade das reações eletroquímicas, no entanto existem maneiras de determinar a ocorrência de uma reação através de métodos termodinâmicos. De acordo com Landolt pode-se diferenciar três tipos de reações em um processo de corrosão segundo o ponto de vista cinético, dependendo da etapa limitante:³²

- Corrosão controlada pela cinética de reação de transferência de carga, tanto anódica quanto catódica, na interface metal-solução;
- Corrosão controlada pela taxa de transporte de massa dos agentes oxidantes ou dos produtos das reações anódicas;
- Corrosão controlada pelas propriedades do filme passivo. A reação anódica controla a reação de corrosão e a taxa média de corrosão é frequentemente muito pequena.

Mesmo não sendo possível determinar precisamente a velocidade das reações eletroquímicas, pode-se prevê-la através de algumas metodologias, como, a obtenção de curvas de polarização, medidas de impedância eletroquímica, entre outros. As informações necessárias para a previsão da velocidade de corrosão dependem se a reação pode ser controlada por processos de transferência de carga, que não são afetados pela velocidade da solução ou por agitação, ou por transporte de massa, que são fortemente influenciados pela velocidade da solução e pela agitação.⁹ Kelly et al³³ alegam que é complexa a influência da velocidade de escoamento na taxa de corrosão e na velocidade das reações eletroquímicas e que para entender como esse fenômeno se comporta é importante se ter uma compreensão da teoria dos potenciais juntamente com os conceitos hidrodinâmicos.

O cálculo da velocidade da reação controlada pela transferência de massa necessita de conhecimentos detalhados de alguns parâmetros, como, a geometria do sistema, a distribuição da concentração dos componentes em solução, algumas propriedades do eletrólito, entre outros.³³ Segundo Kelly et al³³ os processos de

corrosão dependem da velocidade de escoamento e o aumento da taxa de corrosão em superfícies metálicas é diretamente proporcional ao aumento da velocidade de fluxo, contudo se estabiliza em altas velocidades, pois as reações catódicas e anódicas são controladas por transferência de carga. De acordo com o mesmo autor, em metais não passivados e em ligas submersas em soluções neutras a taxa de corrosão é normalmente controlada por transporte de massa da reação catódica e, um bom exemplo que elucida essa informação, é a reação de redução do oxigênio no aço imerso em uma solução neutra de cloreto de sódio, onde a baixa concentração de oxigênio a temperatura ambiente em solução aquosa, em torno de 8 ppm (0,25 mM/L), limita a velocidade da reação catódica em estruturas catodicamente polarizadas. Contudo o oxigênio pode ser deslocado da solução para o interior da interface do processo, aumentando assim seu suprimento no local, através da velocidade de escoamento do fluido.^{9,33}

3.3.3

Corrosão Influenciada por Microrganismos (CIM)

A corrosão influenciada por microrganismos (CIM) ou biocorrosão é um processo eletrolítico de dissolução metálica iniciada ou acelerada por microrganismos, os quais alteram a interface entre o metal e a solução a que está exposto induzindo, acelerando e/ou inibindo o processo anódico ou catódico que controla as reações de corrosão.⁸ O depósito de microrganismos e seus metabólitos na superfície do material acumulam-se, agregando-se e formando colônias, causando sérios danos ao material, seja iniciando ou acelerando o processo de corrosão que pode ocorrer sob diferentes formas: por pites, por frestas ou por isolamento, reduzindo assim sua vida útil.

No processo biológico de corrosão, sob a colônia microbiana formada na superfície metálica produz-se uma região anaeróbia em consequência do consumo de oxigênio pela respiração microbiana, caso sejam organismos aeróbios, e outra região mais externa à colônia contendo uma concentração maior de oxigênio que está em contato com o meio oxigenado. Esse gradiente de concentração de oxigênio formado acelera ativamente a reação de corrosão que continuará mesmo

que haja a morte desses microrganismos. A figura 6 apresenta o esquema da corrosão microbiana.³⁴

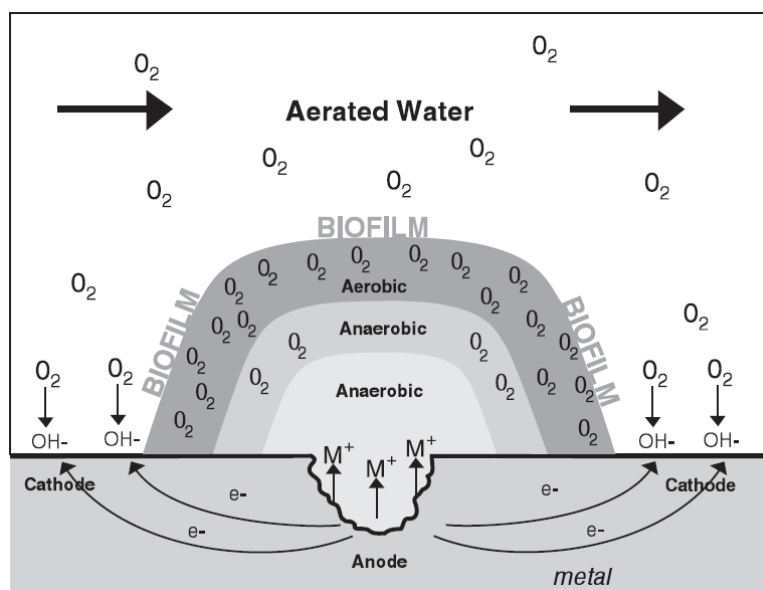


Figura 6 – Esquema da corrosão microbiológica sob uma superfície metálica.³⁴

Os microrganismos presentes no meio ambiente são atraídos para a superfície metálica na qual se aderem, por forças eletrostáticas, iniciando a formação de um fino filme orgânico denominado de biofilme. Este filme é composto por células imobilizadas e dispersas em uma matriz orgânica de polímeros extracelulares produzidos pelos microrganismos.^{8, 35}

A adesão não uniforme do biofilme resulta na formação de células de aeração diferencial onde nas áreas sob as colônias de microrganismos ocorre um esgotamento de oxigênio, respiração aeróbia, em relação às áreas vizinhas não colonizadas. Essa diferença na concentração de oxigênio em dois locais deferentes no metal causa diferença no potencial elétrico e a corrosão acontece.³⁴

De acordo com a figura 7 observa-se que as reações que acontecem na superfície do metal que está coberta por depósitos biológicos ocorrem sob o biofilme ou através dele e essa interação entre os depósitos biológicos e inorgânicos pode ocasionar em uma modificação no comportamento passivo do metal.

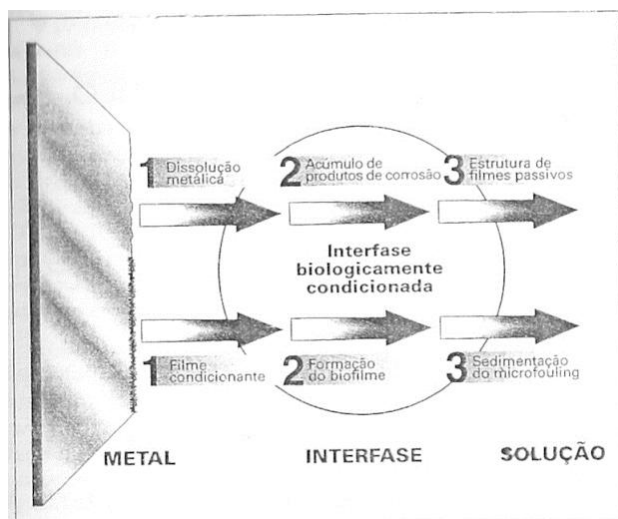


Figura 7 – Esquema da interface bioeletroquímica entre o metal e a solução contendo depósitos biológicos e inorgânicos.⁸

3.3.3.1 O meio ambiente

A corrosão microbiana (CIM) é um fenômeno eletroquímico que está intrinsicamente relacionado com o tipo de substrato e com as condições ambientais. Esse tipo de corrosão pode acontecer em quase todo o tipo de meio ambiente, tais como, óleo, água do mar, água potável entre outros. Por esse motivo a biocorrosão pode ocorrer em diversos ramos da indústria, como, a petrolífera, geração de energia, causando grandes prejuízos.³⁵

Estima-se que a biocorrosão seja responsável por 10% dos casos de corrosão no Reino Unido³⁶, além de ser responsável pela redução do tempo de vida para menos de três anos de uma linha de transmissão no Oeste da Austrália que foi projetada para atuar por aproximadamente vinte anos.³⁵ É portanto uma das principais causas nos problemas de corrosão em oleodutos subterrâneos.³⁷

A CIM é causada por inúmeros agentes, sendo as bactérias redutoras de sulfato (BRS) o principal grupo que está relacionado à corrosão microbiológica em superfícies ferrosas. As BRS são microrganismos que causam corrosão em substratos metálicos e isso é resultado de reações oxidativas iniciadas ou mantidas pelas atividades deles, produzindo assim metabólitos corrosivos que são

excretados para o meio extracelular, solubilizando-se no fluido em suspensão o que permite contato direto com a superfície metálica.

Os microrganismos excretam diversos metabólitos, no entanto os que tendem a provocar a perda de massa do metal, por serem os mais corrosivos são: gás sulfídrico (H_2S), dióxido de carbono (CO_2), ácidos orgânicos e inorgânicos, íon hidrogênio (H^+). Vale ressaltar que muitas espécies de microrganismos produzem esses metabólitos corrosivos, contudo não se pode evidenciar que a presença dessas espécies na superfície de um metal corroído tenha contribuído para esse processo de corrosão.³⁸

Segundo Sooknah et al³⁹ há diversos grupos de microrganismos coexistindo na superfície metálica formando um tipo de consórcio microbiano misto, sendo os principais grupos microbianos as bactérias redutoras de sulfato (BRS), bactérias oxidantes do enxofre, bactérias produtoras de ácidos, bactérias oxidantes do ferro, bactérias oxidantes do manganês. Esses grupos coabitam em uma matriz polimérica, denominada de biofilme, que está sobre a superfície do metal formando um meio complexo, porém coordenado.

A variedade de espécies reflete na diversidade dos mecanismos da CIM, pois as atividades fisiológicas desses microrganismos são bastante diversificadas.

Apesar de existirem muitos estudos a cerca do mecanismo da CIM, ainda não se tem conhecimento de como exatamente os microrganismos contribuem para o processo corrosivo. A teoria mais aceita é a de que os microrganismos funcionam como catalisadores no processo de corrosão.³⁹

3.4

Propriedades estruturais de superfícies

3.4.1

Estrutura atômica, topografia e microscopia de superfícies metálicas⁹

A avaliação da topografia e da estrutura da superfície dos materiais pode ser feita através da escala microscópica ou da escala atômica ou nanométrica, sendo que a topografia da superfície metálica em escala microscópica depende principalmente do processo de fabricação.⁹ Segundo Landolt a utilização de ferramentas de corte pode ocasionar em uma deformação plástica na superfície do metal resultando, normalmente, em rugosidade elevada, com cerca de alguns micrômetros, dependendo dos processos de fabricação e das propriedades do material.³² Já o polimento modifica a rugosidade superficial, diminuindo-a, mas ocasiona alguma deformação plástica. Sabe-se também que os polimentos químicos e eletroquímicos podem ser utilizados como acabamento em superfícies metálicas e que não causam deformação plástica, contudo podem acarretar a formação de pites ou irregularidades denominadas de “orange peel”.^{9, 32}

De acordo com esse autor geralmente as superfícies com rugosidade menor são mais resistentes ao processo de corrosão quando comparadas com as que possuem uma rugosidade mais elevada, visto que a rugosidade favorece a formação de células de corrosão favorecendo a adesão dos produtos de corrosão.³²

De acordo com Lopes⁴⁰ a rugosidade superficial possui um importante efeito na adesão microbiana favorecendo a formação de biofilme e seu desenvolvimento em superfícies metálicas. No entanto há autores que reportam a falta de correlação entre a adesão bacteriana e a rugosidade superficial.⁴¹

3.4.2

Rugosidade superficial⁹

As superfícies dos materiais possuem irregularidades, quando são observadas em detalhe, que são provenientes do processo de fabricação e do acabamento superficial que sofreram. A rugosidade tem por definição ser um

conjunto de desvios microgeométricos que é caracterizado por pequenas saliências e reentrâncias presentes na superfície.⁴²

Muitos estudos apontam que a rugosidade superficial é um dos fatores que influenciam a adesão microbiana em superfícies metálicas, pois influenciam o transporte de massa e a colonização microbiana em razão de alguns fatores, como o aumento do transporte de massa convectivo nas vizinhanças do substrato, o aumento da área disponível para adsorção, redução das taxas de deslocamento, entre outros.^{7, 9, 41}

Segundo Characklis e Marshall⁷ pode-se medir quantitativamente a rugosidade superficial através de métodos de resistência ao atrito caso o perfil da rugosidade apresente uma amplitude superior à subcamada viscosa. Caso contrário, a rugosidade passa a ser denominada de microrugosidade e sua medição será mais complicada de se realizar.

A norma brasileira NBR ISO 4287 da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas)⁴³ avalia a rugosidade dos materiais. Segundo essa norma o perfil de rugosidade e seus parâmetros têm sido as únicas partes da caracterização superficial que estão mais claramente elucidados. Há dois parâmetros que são mais utilizados na avaliação da rugosidade superficial: a rugosidade média (RA ou R_a) que é um parâmetro determinado em função da linha média do perfil de rugosidade dentro do percurso de medição (figura 8); a raiz quadrada do quadrado da média das rugosidades (RMS ou R_q) que é o desvio médio quadrático do perfil avaliado e acentua o efeito dos valores do perfil que afastam da média (figura 9).⁴³

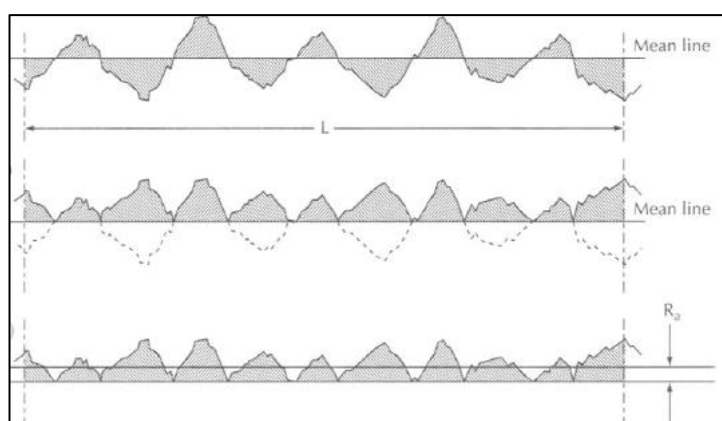


Figura 8 – Rugosidade média. Parâmetro de amplitude R_a .⁹

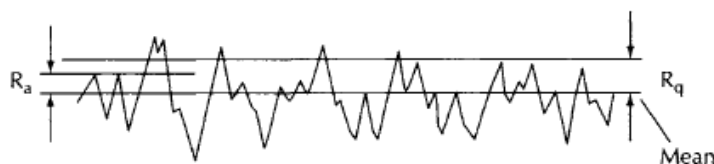


Figura 9 – Parâmetro R_q . 9

Os parâmetros da rugosidade média e da rugosidade quadrática média estão relacionados à amplitude do perfil de rugosidade e não fornecem informações a respeito do comprimento de onda da rugosidade, pois seus valores absolutos estão relacionados ao comprimento do intervalo que é considerado durante a medição.

Segundo Hilbert et al⁴⁴ alguns parâmetros podem ser utilizados para caracterizar a superfície do material sendo que o parâmetro da rugosidade média (R_a) é o mais amplamente utilizado, mas seu valor não diferencia as características das superfícies como a topografia ou a presença de porosidades ou marcas. Por esse motivo atualmente utilizam-se outros métodos para visualizar a topografia da superfície, como a microscopia de força atômica (AFM), microscopia eletrônica de varredura (MEV).

A adesão das bactérias nas superfícies depende de parâmetros microbiológicos, físicos e químicos. A topografia da superfície é um parâmetro que vem sendo amplamente discutido como sendo responsável por influenciar a adesão microbiana. Este parâmetro pode modificar a superfície de um material tanto física quanto quimicamente a fim de reduzir a fixação limitando a adesão microbiana.⁴⁴ Neste trabalho a topografia da superfície dos corpos de prova metálicos utilizados nos ensaios foi medida utilizando o parâmetro da rugosidade média (R_a).

3.5

Microrganismos promotores da CIM

As diferentes espécies de microrganismos presentes no meio ambiente participam direta ou indiretamente do processo de corrosão microbiana, sendo que as bactérias são as principais causadoras da CIM, pois modificam a interface entre o metal e a solução em que se encontram, induzindo ou acelerando o processo de corrosão na superfície do material. De acordo com Whitaker elas podem ser agrupadas e classificadas de acordo com três características básicas avaliadas por ele: o tipo de morfologia, o grau de organização celular e como as células são formadas.⁸ As bactérias são organismos compostas por uma única célula, são procariontes, pois não possuem envoltório nuclear (carioteca) então seu DNA, que é circular, fica disperso no citoplasma, possuem poucas estruturas citoplasmáticas e algumas outras como: parede celular que circunda a membrana citoplasmática dando-lhes rigidez mecânica; cápsula e películas mucilaginosas na parte mais externa da célula que tem como função a aderência nas superfícies conferindo um importante papel na formação do biofilme e na indução da biocorrosão.

Na natureza, esses microrganismos vivem em diversos nichos ecológicos podendo viver isolados ou em colônias. São pequenas, possuindo entre 0,2 e 5 µm de largura por 1 a 10 µm de comprimento⁸ e se multiplicam com rapidez, dividindo-se por bipartição (reprodução assexuada). Por apresentarem dimensões reduzidas podem se alocar em pequenas frestas.

Possuem também diferentes formas, como bacilos, vibriões, cocos, espirilos. Algumas podem viver em diferentes ambientes, sobrevivendo em locais que são inóspitos para a maioria dos seres vivos, como, por exemplo, em crateras vulcânicas, em lagos com alta salinidade, sendo estas chamadas de extremófilas.

A temperatura é considerada por muitos autores o principal fator ambiental que afeta o crescimento e a sobrevivência dos microrganismos.⁴⁵ As bactérias possuem temperatura ótima de crescimento que varia de acordo com as espécies existentes, no entanto a maioria delas se desenvolve melhor na temperatura ambiente. Com variações bruscas de temperatura os microrganismos podem não sobreviver por afetar as enzimas celulares tornando-as inativas, na maioria dos casos. Na figura 10 encontra-se esquematizado a temperatura ótima de crescimento para as diferentes espécies de bactérias existentes.

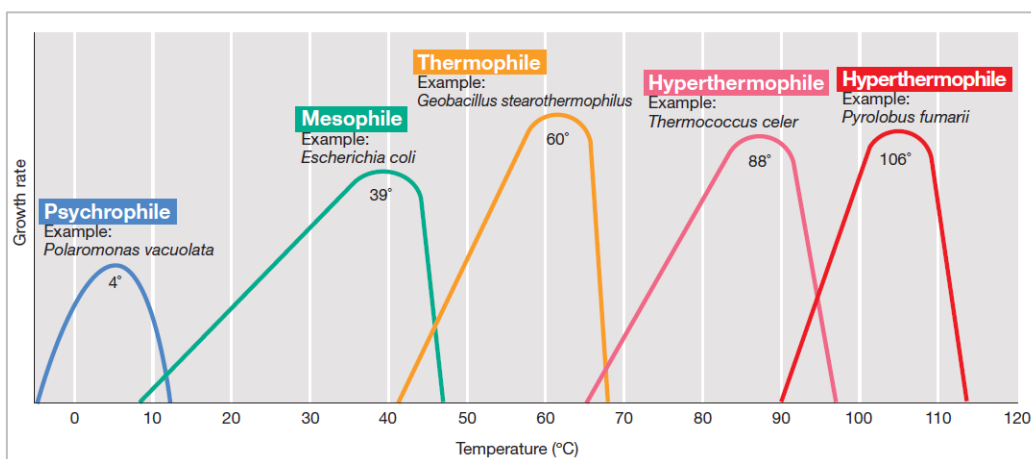


Figura 10 – Relação entre a temperatura ótima de crescimento para os diversos tipos de bactérias.⁴⁵

Segundo Shams El Din et al⁴⁶ há uma relação entre o aumento da formação de biofilme com a elevação da temperatura, até ser atingida uma temperatura definida, que depende do ambiente que se está estudando. Quando esta temperatura é atingida a atividade cessa completamente por causa da morte dos microrganismos. Essa temperatura varia de acordo com o ambiente estudado e as espécies presentes no meio.

A maioria dos trabalhos que estudam o comportamento da CIM realiza os experimentos em temperatura ambiente, no entanto Martinez et al⁴⁷ observaram a corrosão microbiana em condições extremas, com temperatura em torno de 150°C e pressão absoluta de 13, 25 kPa e constataram que as condições do ambiente favoreceram a nucleação e crescimento de colônias de BRS das espécies *Desulfotomaculum nigrificans* e *Desulfotomaculum acetoxidans*. Localizaram esporos que possuíam a mesma morfologia dessas espécies e encontraram micro colônias de BRS aderidas no local aonde ocorreu uma corrosão localizada por pites. No entanto nessa investigação não conseguiram precisar a origem da bactéria que causou a corrosão por pites na superfície metálica.⁴⁷

Outro fator importante que afeta o crescimento das bactérias é o pH. Há espécies que podem se desenvolver em ambientes com pH variando de 0 a 5, chamadas de acidófilas, como, por exemplo, algumas bactérias que reduzem o enxofre à ácido sulfúrico e conseguem tolerar condições de pH em torno de 1. Há aquelas que crescem em faixas de pH entre 8,5 e 12, chamadas de alcalinófilas e a

maioria das espécies bacterianas se desenvolvem em ambientes com pH na faixa entre 5,5 e 8,4, chamadas de neutrófilas.⁴⁵

O ambiente em que esses microrganismos vivem influencia no desenvolvimento e a formação de colônias. Por serem seres unicelulares são mais suscetíveis às variações no meio em que estão expostos e a variação da salinidade é um dos fatores que influencia as bactérias, juntamente com a temperatura e pH.

Os microrganismos retiram da água presente no meio ambiente a maior parte dos seus nutrientes solúveis e a concentração de solutos dissolvidos nesse ambiente aquoso influenciará a sobrevivência desses seres. A pressão osmótica é um fenômeno químico que os afeta, pois se o meio for hipertônico em relação às suas células elas perderão água para o ambiente sofrendo plasmólise, ocasionando assim a morte da maioria das espécies de bactérias. No entanto há bactérias que conseguem sobreviver e se desenvolver em condições hipersalinas com quantidade de NaCl superior a 15% que são as halófitas extremas como é o caso da espécie *Halobacterium salinarum*.³⁹

As bactérias são capazes de produzir esporos que são estruturas altamente resistentes produzidas no interior das células sendo mais comum em organismos que vivem no solo e que precisam se adaptar a condições mais adversas.

Os esporos são produzidos através do processo de esporulação que produz proteínas especiais que protegem o DNA e somente acontece quando a sua sobrevivência é ameaçada por um agente externo, como o acúmulo de resíduos tóxicos, radiação, altas temperaturas, falta de determinados nutrientes que pode causar inanição, pois a sua formação é bastante complexa para o microrganismo.⁴⁵

Desse modo, o metabolismo microbiano é reduzido e a bactéria consegue sobreviver no ambiente por um tempo prolongado e quando este se torna favorável para o seu crescimento ele germina. De um modo geral são resistentes ao calor, à radiação e a produtos químicos.^{8, 9, 45}

O processo respiratório microbiano é bastante diversificado, sendo este um dos motivos pelo qual esses seres vivos conseguem habitar diferentes lugares. Quanto à respiração as bactérias podem ser divididas em dois grandes grupos, as denominadas anaeróbias, que não utilizam o gás oxigênio (O₂) como aceptor final na respiração celular e as chamadas aeróbias, que usam o oxigênio na sua respiração. No grupo das anaeróbias há bactérias, denominadas de anaeróbias estritas, que são intolerantes à presença desse gás, sendo letal para elas e outras,

chamadas de aerotolerantes, que suportam a presença deste gás, no entanto tem seu crescimento limitado pela sua presença. Um exemplo de um microrganismo aerotolerante é o grupo das bactérias redutoras de sulfato (BRS).^{8, 45}

No grupo das aeróbias há microrganismos, nomeados aeróbios estritos, que só crescem na presença de oxigênio, existem outras, denominadas de aeróbios facultativos, que não necessitam de O₂, porém se desenvolvem melhor em sua presença. E os microaerófilos, que precisam do O₂ para seu crescimento, contudo em baixas concentrações.^{8, 9, 45}

A nutrição bacteriana é bastante diversificada, pois estes microrganismos utilizam diferentes fontes de obtenção de energia. Os microrganismos necessitam de nutrientes para obter energia através do metabolismo e para sintetizar novas células, sendo alguns elementos indispensáveis para o seu desenvolvimento, tais como carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e fósforo. Há outros elementos que são importantes, mas em menor proporção, como o sódio, cálcio, potássio, magnésio, manganês e ferro. Dentre os citados, o carbono é o mais importante, pois além de ser fonte de geração de energia, através das moléculas orgânicas, é também o principal constituinte das células microbianas, sendo assim, indispensável no meio de cultivo bacteriano. O nitrogênio e o fósforo são complementos essenciais para o metabolismo celular, pois participam da estrutura celular microbiana formando moléculas essenciais para os microrganismos sendo a falta deles um fator limitante do crescimento e atividade bacteriana e o excesso pode acelerar, de maneira descontrolada, o crescimento microbiano, favorecendo o desenvolvimento de algumas espécies em detrimento de outras.^{8, 45}

As bactérias podem ser classificadas também de acordo com a fonte de carbono que utilizam no seu metabolismo, pela produção de energia e pela síntese de material orgânico. Elas podem ser divididas em autotróficas e heterotróficas. O primeiro grupo produz matéria orgânica utilizando carbono inorgânico, principalmente o dióxido de carbono (CO₂), como fonte de carbono e podem ser separados em quimiolitotróficos, que obtêm a energia através da oxidação de compostos inorgânicos que tem como exemplo a espécie *Gallionella* (bactéria oxidante do ferro), e fotoautotróficos, que conseguem a energia da radiação solar para sintetizar matérias orgânicas a partir do CO₂ e da água através do processo denominado fotossíntese. Já os seres heterotróficos utilizam compostos orgânicos do meio externo como fonte de carbono para obtenção de energia e são divididos

em fotoheterotróficos, que utilizam a radiação solar como fonte de energia, no entanto consomem substâncias orgânicas contidas no meio ambiente como fonte nutricional, e os quimoheterotróficos usam moléculas orgânicas como fonte de energia.^{8, 45}

Algumas espécies de bactérias conseguem se adaptar mais rapidamente a diferentes fontes de nutrientes podendo, assim sobreviver em diversos habitats, participar de vários nichos ecológicos e ter uma adaptação constante ao ambiente em que está inserido. Um exemplo seria o microrganismo *Pseudomonas fluorescens* que possui em torno de cem diferentes tipos de substratos como fonte de carbono e energia, tais como açúcares, lipídios, fenóis, entre outros.^{8, 9, 45}

O metabolismo microbiano é um conjunto de transformações que as substâncias químicas sofrem no interior do microrganismo e que compreende dos processos que ocorrem simultaneamente dentro do organismo, chamados de vias desassimilatória e assimilatória. A primeira, também denominada de catabolismo, é uma via de degradação, de decomposição onde ocorrem reações redox que fornecem energia para o organismo e a segunda, também chamada de anabolismo, é uma via de assimilação que engloba todas as reações que utilizam a energia produzida no catabolismo para a síntese de novos materiais celulares.^{8, 45}

O reino monera é composto por inúmeras espécies que possuem diversos tipos de aceptores finais de elétrons em sua respiração celular, como o O_2 , CO_2 , NO_3^- , SO_4^{2-} que são transformados em H_2O , NO_2^- , N_2 , CH_4 , H_2S , como produto desse metabolismo e o H_2S se destaca como sendo um dos responsáveis pela corrosão.⁶

As bactérias do gênero *Pseudomonas*, por exemplo, utilizam o ânion nitrato reduzindo-o a nitrogênio e é usada, juntamente com outras espécies que metabolizam esse ânion, como inibidor de corrosão no processo de biocompetição apesar de algumas espécies serem patogênicas.⁶ Esses microrganismos possuem o mesmo nicho ecológico daqueles que participam da corrosão microbiológica, então acabam competindo pelos mesmos nutrientes. Como eles possuem um metabolismo mais acelerado, esses microrganismos terão um desenvolvimento mais rápido frente àqueles que ocasionam a biocorrosão, inibindo assim esse processo de corrosão.

De acordo com Pope et al⁶, algumas bactérias redutoras de sulfato que reduzem o ânion sulfato na respiração celular, como as do gênero *Desulfovibrio*,

produzem enzimas com ação química extracelular, onde uma delas, a hidrogenase, vem sendo abordada como um dos agentes químicos causadores da corrosão em ligas ferrosas.⁶ Essa enzima tem um papel muito importante no metabolismo dos seres anaeróbios, pois catalisa a reação de oxidação reversível do hidrogênio molecular.

As espécies *Gallionella* e *Sphaerotilus* são capazes de interagir diretamente com os metais ou íons metálicos reduzindo-os ou oxidando-os e essas espécies oxidam o íon Fe^{+2} a Fe^{+3} que se depositam ao redor das suas células causando a obstrução de tubulações.⁸ Pope et al⁶ sugeriu que as bactérias são capazes de removerem íons férricos aderidos na superfície do aço carbono, deixando-a reativa, o que aceleraria o processo corrosivo.

As bactérias podem viver isoladas ou formar colônias e as colônias de diferentes espécies, juntamente com outros seres vivos, podem interagir formando comunidades onde há vantagens recíprocas para essas espécies que se relacionam, processo denominado de mutualismo. Essas comunidades, que apresentam características que individualmente não desenvolveriam, podem alterar a estrutura fisiológica podendo causar modificações intra ou extracelulares, além de proverem proteção contra ambientes adversos aos seres constituintes dessas comunidades.⁶

3.5.1

Microrganismos relacionados com o Enxofre ou seus Compostos³

Segundo Videla, a biocorrosão pode ser iniciada ou acelerada por diferentes grupos microbianos, como, bactérias, fungos e algas, sendo que em relação às bactérias, o grupo das bactérias redutoras de sulfato (BRS) possui um destaque especial, pois se acredita que esse grupo seja o principal causador de corrosão em superfície metálica.⁸

De acordo com Hamilton acredita-se que compostos que atuam no ciclo do enxofre podem estar envolvidos em 95% dos casos de CIM.⁴⁸ Há indícios de que as BRS atuam e conjunto com outros microrganismos presentes no meio ambiente no processo de corrosão e caso os organismos anaeróbios estiverem envolvidos no ciclo do enxofre juntamente com os seres aeróbios as reações de corrosão se

propagarão ao longo da superfície do material, como pode ser observado na figura 11.^{3, 49}

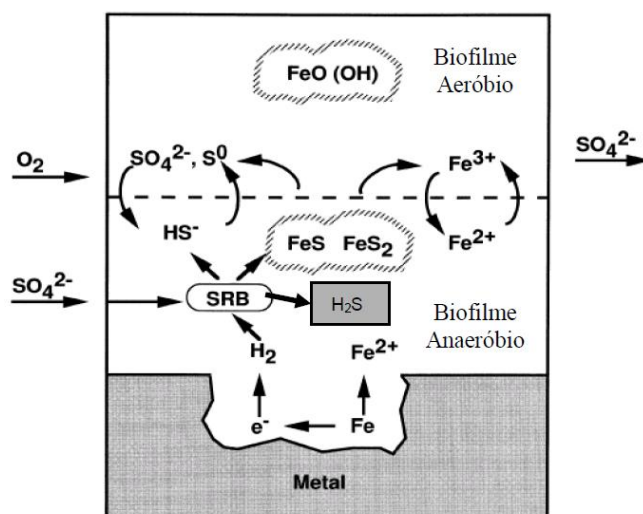


Figura 11: Relação entre colônias de microrganismos redutores de sulfato.³

No ciclo de enxofre as bactérias que se destacam são as oxidantes (aeróbias) e as redutoras (anaeróbias) e as bactérias do gênero *Thiobacillus* o enxofre ou os compostos de enxofre, tais como, sulfito, tiosulfito e politionatos a sulfato, produzindo assim ácido sulfúrico, fornecendo uma corrosão mais agressiva ao metal.^{3, 5, 8} O ciclo biogeoquímico representa as transformações do enxofre através de reações de oxi-redução, em que vários microrganismos presentes no meio ambiente oxidam a forma reduzida do enxofre (H_2S) a sulfato e depois essa substância (sulfato) pode ser novamente reduzida à sulfeto pelas bactérias redutoras de sulfato (BRS).^{3, 50}

3.5.2

Bactérias Anaeróbias Heterotróficas Totais (BANHT)

O grupo das bactérias anaeróbias heterotróficas totais (BANHT) é formado por microrganismos de diferentes espécies com características comuns. Essas bactérias utilizam carbono orgânico como fonte de energia e a sua quantificação é muito importante para auxiliar o controle bacteriológico para assim avaliar as

condições da fonte geradora, em função da higienização e também para controle do ambiente.

As bactérias redutoras de sulfato (BRS) pertencem ao grupo das bactérias anaeróbias heterotróficas (BANHT) e esse subgrupo bacteriano (BRS) é uma das principais responsáveis pela corrosão microbiana em superfícies ferrosas. Neste trabalho esses dois grupos bacterianos (BANHT e BRS) serão quantificados, a fim de determinar a densidade bacteriana aderida na superfície metálica e no fluido.

3.5.2.1

Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS)

As BRS são muito importantes para a corrosão microbiana, pois são capazes de formar agregados celulares, característica relevante para o processo corrosivo, e de viverem em mutualismos com outras espécies de bactérias formando um consórcio que exerce um processo sinérgico potencializando a corrosão. Segundo Pope et al⁶, elas possuem receptores específicos para nutrientes orgânicos em suas membranas, fazendo com que elas possuam uma aderência heterogênea na superfície do material, pois esses nutrientes são adsorvidos pelas superfícies metálicas em áreas localizadas. As bactérias irão se aderir em diferentes locais ao longo da superfície do material em virtude da adsorção diferenciada dos nutrientes orgânicos.

As primeiras bactérias redutoras de sulfato (BRS) foram descobertas a mais de um século atrás e desde então vem sendo caracterizada como anaeróbias estritas sendo necessárias técnicas estritamente anaeróbicas para isolar a maioria das espécies pertencentes a esse grupo. No entanto outros estudos apontam que as BRS conseguem sobreviver e se desenvolver em presença de oxigênio molecular e estudos tem mostrado que esse grupo de bactéria pode permanecer expostas por horas ou até dias.⁵¹ Alguns trabalhos apontam que alguns gêneros de BRS, como *Dessulfovibrio*, *Desulfobulbos*, *Desulfobacterium* e *Desulfococcus* mostraram possuir capacidade de ter respiração aeróbica e este fato foi atribuído à presença de enzimas que as protegem do oxigênio molecular. Esses estudos indicam que tais microrganismos estão associados a matrizes biológicas laminares originárias de habitat de água doce ou marinho e/ou hipersalino, o que é mais comum.⁵¹

Muitos estudos apontam que as bactérias redutoras de sulfato (BRS) são as principais causadoras da corrosão microbiana em superfícies ferrosas. Elas constituem um grupo taxonomicamente diversificado de diferentes espécies bacterianas relacionadas por aspectos ecológicos e fisiológicos. Segundo Pope et al⁶ os principais gêneros pertencentes a esse grupo são os *Dessulfovibrio*, *Dessulfomonas* e *Dessulfotomaculum*. A maioria das BRS é aerotolerante que utiliza preferencialmente o íon sulfato como aceptor final de elétrons em sua respiração celular. No entanto algumas espécies pertencentes a esse grupo podem utilizar de maneira alternativa, o nitrato, o piruvato ou o formiato como aceptor de elétrons.⁶

O grupo das BRS é composto por bactérias heterotróficas que oxidam as matérias orgânicas reduzindo o íon sulfato a sulfeto (figura 12). Observou-se que há espécies que oxidam óxidos orgânicos de cadeias curtas em água doce e em sedimentos marinhos.

Esses microrganismos participam do ciclo do enxofre na natureza e estão relacionadas ao processo de corrosão microbiana. O ciclo do enxofre é composto por organismos que são capazes de reduzir o íon sulfato através de duas vias metabólicas distintas: redução desassimiladora dos íons sulfatos que atuam como aceptor final de elétrons na respiração anaeróbica que forma hidrogênio sulfetado; redução assimiladora de íons sulfatos utilizados como fonte de enxofre sendo reduzidos a sulfetos orgânicos.^{8,9}

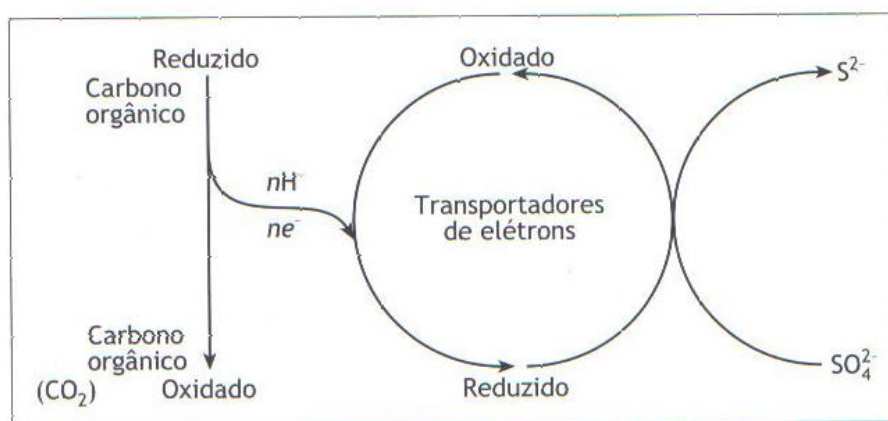
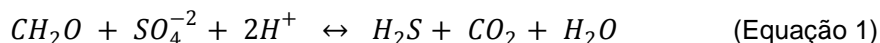


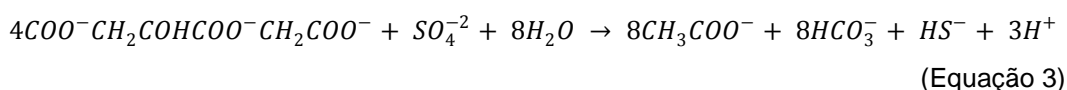
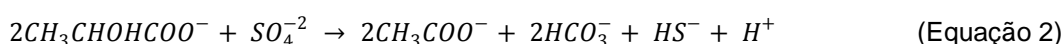
Figura 12 – Metabolismo das bactérias redutoras de sulfato. O carbono orgânico é utilizado como doador de elétrons na redução do íon sulfato.⁸

De acordo com Gilbert⁵², o processo de redução do sulfato pode ser representado pela equação global simplificada (equação 1) em que o composto orgânico é simbolizado por CH₂O.

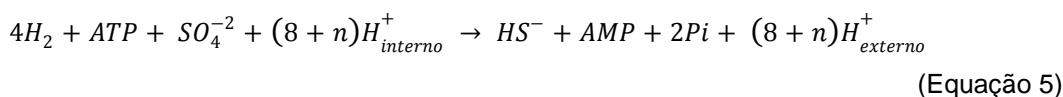


Em uma revisão feita por Barton algumas substâncias foram definidas como sendo utilizadas pelas BRS que habitam os diferentes ambientes, sendo do gênero mesófilo ou termófilo e utilizando compostos orgânicos como substrato (doadores de elétrons) em sua respiração celular oxidando-as completamente a dióxido de carbono (CO₂) ou incompletamente a acetato.⁵³ As substâncias utilizadas por essas bactérias são: lactato, formiato, acetato, etanol, hidrocarboneto parafínicos, como hexadecano, metanol, glicose, frutose, ácidos graxos em geral (com cadeias com três carbonos – C₃ – a dezoito – C₁₈), glicerol, acetona, fumarato, malato, fenol entre outras, além de hidrogênio molecular associado ao CO₂ e traços de acetato que são utilizados na rota mixotrófica.⁵⁴

Segundo Kleikemper et al⁵⁵ as reações estequiométricas de degradação incompleta de fontes de carbono como o lactato e o citrato a acetato, eq. (2) e eq. (3) respectivamente, e também a degradação do acetato, eq. (4) pelos microrganismos redutores de sulfato foram representadas pelas seguintes equações:



O processo assimilativo e desassimilativo do sulfato começa com a ativação dos íons sulfato pela molécula Adenosina Trifostato (ATP) no metabolismo dos microrganismos redutores de sulfato e a reação global utilizada no processo metabólico desses seres está disposta na eq. (5).^{4, 56}



As bactérias mais amplamente estudadas pertencem ao gênero *Dessulfovibrio* pelo fato de serem isoladas mais facilmente. Elas não formam esporos e podem viver em diferentes ambientes, como o solo, água doce ou salgada. Atualmente são conhecidas sete espécies desse gênero, sendo a *Dessulfovibrio dessulfuricans* a espécie mais conhecida e mais relevante para a corrosão microbiana.^{6,9}

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Dessulfotomaculum* possuem espécies mesófilas e termófilas e são capazes de formar esporos possuindo assim uma adaptação maior ao meio ambiente. Até o momento são conhecidas cinco espécies pertencentes a esse gênero, pois são mais difíceis de serem isoladas e purificadas. Possuem a capacidade de sobreviver a diferentes ambientes e algumas espécies são termófilas, conseguindo se desenvolver em temperaturas superiores a 70°C. Foi reportada a existência de uma espécie halofílica.^{6,9,46}

As condições ambientais são bastante relevantes para o crescimento microbiano. O grupo das BRS se desenvolve em ambientes relativamente alcalinos, em uma faixa de pH entre 7,0 a 7,8, no entanto podem tolerar faixa mais ampla de pH, entre 5,5 a 9,0. Alguns casos reportam a existência de espécies pertencentes ao grupo das BRS que conseguem se desenvolver em condições mais severas, em ambientes ácidos, com pH na faixa de 2,5 a 4,5, como as que existem nos efluentes de mineração. Essas espécies de bactérias podem sobreviver nesse tipo de ambiente porque se supõe que elas cresçam em micronichos que conferem uma proteção a elas onde o pH é mais elevado tornando as condições mais favoráveis para o seu desenvolvimento.⁴²

Contudo, o parâmetro mais importante para o crescimento bacteriano é a temperatura. Com relação à temperatura máxima tolerada pelos microrganismos, as bactérias pertencentes ao grupo das BRS podem ser agrupadas em dois grupos: mesófilas que geralmente pertencem o gênero *Dessulfovibrio*, que não toleram temperaturas superiores a 45°C e termofílicas que geralmente pertencem o gênero *Dessulfotomaculum*, sendo a espécie *Dessulfotomaculum nitrificans* a mais comumente isolada e conseguem crescer em temperaturas superiores a 70°C.⁵⁷

A maioria das bactérias pertencentes ao grupo das BRS habita o ambiente aquático e a salinidade é um fator importante no desenvolvimento microbiano. Muitos estudos em ecossistemas salinos, como o Mar Morto e Great Salt Lake,

com quantidade de NaCl em torno de 24%, vêm sendo feitos a fim de ser observada a redução microbiológica dos sulfatos que é o indício da presença desse grupo de bactérias. Até o momento a maioria das espécies de BRS isoladas habita o ambiente marinho e levemente halofílica, tendo como faixa ótima de desenvolvimento celular a salinidade entre 1 a 45% de NaCl. No entanto foram isoladas duas espécies pertencentes ao grupo das BRS que são moderadamente halófitas. Uma espécie, denominada de *Dessulfovibrio halophilos*, foi isolada de uma matriz microbiana em Solar Lake em Sinai que possui faixa de salinidade de 3% a 18% de NaCl e essa espécie tem crescimento ótimo em torno de 6 a 7%. A outra espécie de bactéria foi isolada de um lago hipersalino no Senegal chamado de Retba Lake. Esse lago possui uma coloração rósea com salinidade na faixa de até 24% de NaCl sendo que o crescimento ótimo é em torno de 10% de NaCl.⁵⁷

Segundo os autores Eden, Laycock e Fielder⁵⁸ acredita-se que ao utilizar a água do mar no processo de injeção durante a recuperação da produção de petróleo em reservatórios depletados houve um favorecimento para a colonização das primeiras espécies de BRS em sistemas de produção de petróleo. Acredita-se que elas eram mesófilas e que a água do mar passou a ser um vetor para a inoculação contínua das BRS.

O crescimento das bactérias do grupo das BRS observado por Postgate pareceu ser estimulado pela presença de sulfato ferroso finamente dividido no meio.⁵⁴ O desenvolvimento das BRS produziriam H₂S, sulfeto ferroso e metabólitos celulares que ficariam dispersos no ambiente e que as bactérias mesófilas habitariam primeiramente o meio antes que as termófilas pudessem se estabelecer.^{9, 54}

No metabolismo das BRS haveria também como resultado da redução do íon sulfato a sulfeto a formação de produtos intermediários importantes na corrosão microbiana anaeróbica do ferro, como, o tiosulfato, tetrationsatos e politionsatos,^{9, 54} Desta forma para que se tenha o desenvolvimento das diferentes espécies de BRS, o meio de cultura utilizado deve considerar esses diversos gêneros que são capazes de utilizar distintas fontes de carbono orgânico como fonte de energia que varia em função dos ambientes naturais e industriais que se manifestam.^{9, 54}

As bactérias pertencentes ao gênero *Dessulfovibrio* utilizam como fonte de energia para o seu desenvolvimento a oxidação do hidrogênio, pois possuem uma

enzima denominada de hidrogenase que foi relacionada á corrosão anaeróbica do ferro na Teoria de Despolarização Catódica (TDC), considerada a primeira interpretação eletroquímica de um caso de biocorrosão. Segundo essa teoria gera-se uma reação catódica durante o processo de corrosão em virtude da oxidação do hidrogênio ocasionado pela atividade da enzima hidrogenase, mecanismo da corrosão anaeróbica do ferro pela BRS. Essa enzima despolariza o catodo e acelera indiretamente a reação anódica de dissolução do ferro.^{9, 54}

3.5.3

Bactérias Facultativas Heterotróficas Totais (BFHT)

O grupo das bactérias facultativas heterotróficas totais (BFHT) é formado por microrganismos de diferentes espécies com características comuns. Essas bactérias utilizam carbono orgânico como fonte de energia e a sua quantificação é muito importante para auxiliar o controle bacteriológico para assim avaliar as condições da fonte geradora, em função da higienização e também para controle do ambiente. São aeróbias e as bactérias precipitantes do ferro (BPF) pertencem a esse grupo e esse subgrupo bacteriano (BPB) é também responsável pela corrosão microbiana em superfícies ferrosas. Neste trabalho esses dois grupos bacterianos (BFHT e BPF) serão quantificados, a fim de determinar a densidade bacteriana aderida na superfície metálica e no fluido.

3.5.3.1

Bactérias Precipitantes do Ferro (BPF)

O grupo das bactérias precipitantes do ferro (BPF) é representado por uma ampla diversidade de espécies com grande heterogeneidade morfológica e fisiológica, apresentando em comum a capacidade de oxidar o íon ferroso a férrico. Alguns organismos desse grupo são difíceis de isolar e cultivar em laboratório, dificultando a sua classificação de uma maneira mais bem definida. O estudo desse grupo é importante porque essas bactérias podem causar alterações na água e nas superfícies metálicas, pois além de causarem corrosão microbiológica são capazes de produzir flóculos e depósitos de fouling, tanto

ligeiramente alcalino, crescem em água de rio contendo ferro e CO₂ preferencialmente, suas bainhas possuem hidróxido de ferro e apresentam coloração marrom-amarelada.^{8, 60}

As bactérias dos gêneros *Crenothrix* e *Clonothrix*, pertencentes à família *Crenothriaceae* possuem bainhas finas com inclusões de minerais, desenvolvem-se em águas estagnadas de rio com matéria orgânica em suspensão sendo importantes na recuperação secundária do petróleo por causa das suas ações corrosivas e a capacidade de entupir as instalações.^{8, 60}

3.6 Biofilme

As bactérias que vivem em ambientes aquáticos podem ser encontradas livremente em suspensão (planctônica) ou aderidas a substratos (sésseis). Segundo Geesey et al⁶² as condições ambientais, geralmente, definem se os microrganismos existirão em suspensão ou aderidos. De acordo com o mesmo autor as populações de bactérias planctônicas ou sésseis podem ser formadas por diferentes espécies de diversos gêneros que convivem formando um consórcio microbiano.

Estudos apontam que a adesão microbiana ocorre de uma maneira bem organizada e que obedece a princípios de especificidade e sinalização celular.⁶³ Sabe-se que as bactérias se comunicam através da liberação de sinais químicos específicos, denominados de feromônios, que se intensificam de acordo com o aumento da densidade da população microbiana. Sugere-se que as bactérias utilizam esse tipo de sinalização com a finalidade de induzir a expressão de alguns genes, nomeados de genes alvo, e que esse fenômeno, conhecido como “quorum sensing” (sensibilidade à densidade) acontece em populações com uma densidade microbiana muito elevada.^{23, 63}

O “quorum sensing” pode ser definido como sendo um mecanismo de comunicação entre as bactérias e que tem com objetivo permitir a coordenação do comportamento desses microrganismos em relação ao meio ambiente além de

intervir em inúmeros processos fisiológicos, tais como, fluxo de nutrientes, diferenciação celular e a formação de biofilmes.^{23, 63}

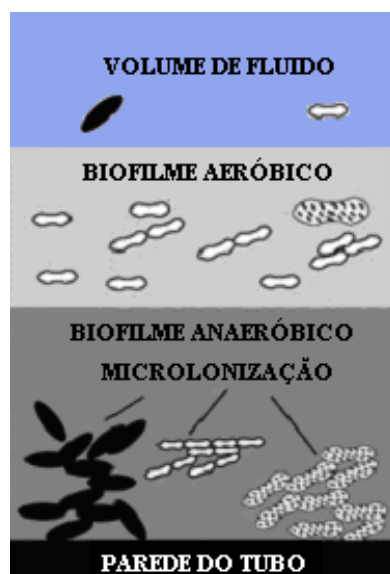


Figura 14 – Esquema da formação de um micro ambiente em biofilme de consórcio bacteriano. Adaptado de Edestron.³⁴

3.6.1 Fisiologia e estrutura do biofilme

Os microrganismos são atraídos para a superfície metálica aderindo-se por forças eletrostáticas e começam a produzir um filme fino denominado de biofilme que é formado de células imobilizadas em um substrato e que são frequentemente incorporadas a uma matriz polimérica de origem microbiana, que pode conter aproximadamente de 80% a 95% de água.^{8, 35} Esse biofilme confere uma resistência às colônias contra ambientes adversos e não é compacto, denso possuindo canais por onde o fluido circula renovando os nutrientes, microrganismos e a própria matriz, destacando-a. As colônias que habitam nessa estrutura podem ser compostas por uma única espécie ou por diversas espécies que coabitam como um tipo de sinergia.³⁵ A superfície do biofilme é muito adsorptiva devido a sua natureza polieletrólítica que é capaz de reter quantidades significativas de substâncias orgânicas e inorgânicas do meio.⁶⁴

Segundo Characklis e Marshall⁷ a curva de evolução do biofilme apresenta uma forma sigmoide e pode ser dividida em três regiões: os eventos iniciais,

acumulação exponencial e patamar estacionário. Pode-se quantificar o biofilme de quatro maneiras diferentes: medição direta da quantificação de biofilme; medição indireta através da atividade biológica do biofilme (por exemplo, contagem de células viáveis); medição indireta através de constituinte específico do biofilme (por exemplo, quantidade de carbono orgânico total); medição indireta pelo efeito do biofilme nas propriedades de transporte (por exemplo, redução da transferência de calor).^{7,9}

A figura 15 representa as etapas de formação do biofilme em uma superfície.

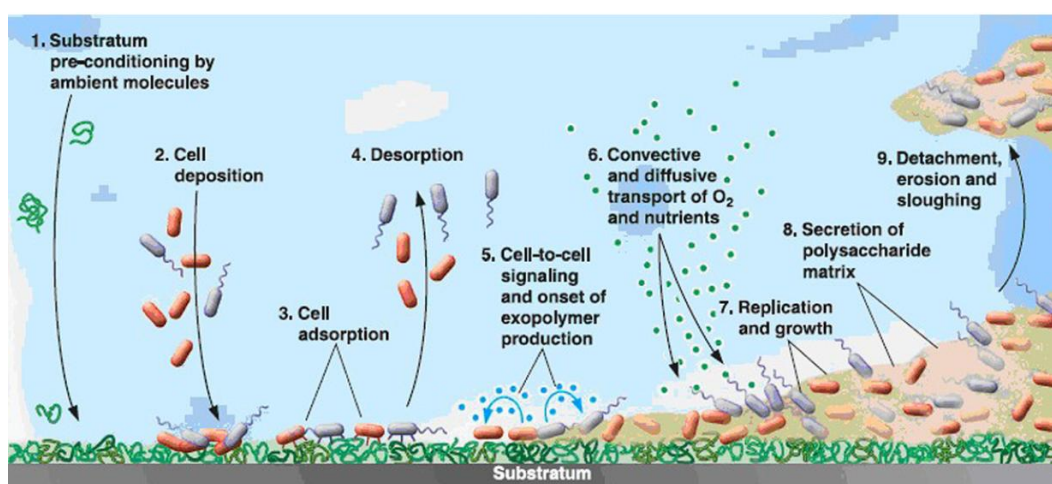


Figura 15 – Estrutura do biofilme em diferentes fases.⁶⁵

A etapa inicial do processo de formação acontece quando o material inerte entra em contato com o fluido fazendo com que a superfície sofra mudanças favorecendo a adsorção de compostos químicos inorgânicos e de moléculas orgânicas em sistemas biologicamente ativos, formando a denominada camada condicionante.⁷ Entre a superfície do material e o fluido em circulação forma-se uma interface entre o sólido e o líquido que favorece a adesão e o desenvolvimento microbiano.

A figura 16 apresenta a formação de uma camada orgânica na interface entre o sólido e o líquido após o contato do substrato com o fluido em circulação. Esse material orgânico é identificado como sendo o formador da camada condicionante e que tem como objetivo neutralizar a carga de superfície que pode impedir a aproximação das células bacterianas livres que estão no fluido a uma distância

ideal para se iniciar o processo de adesão. Além disso, essas moléculas orgânicas funcionam, na maioria das vezes, como fonte de nutrientes para os microrganismos.^{23, 34}

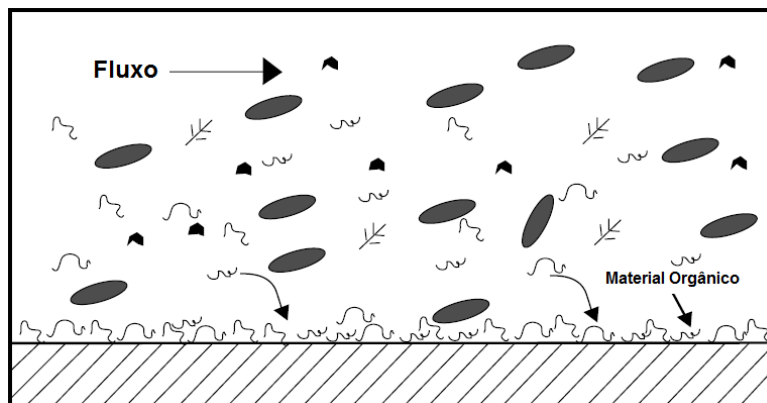


Figura 16 – Esquema da adsorção de moléculas orgânicas em uma superfície formando um filme condicionante. Adaptado de Edestron³⁴.

Após a formação do filme condicionante os microrganismos presentes no fluido em circulação (células planctônicas) irão se aproximar da superfície do material sendo aprisionados na camada limite do fluido, que é uma região que sofre pouca interferência do fluido onde a velocidade do mesmo tende a zero. Inicialmente ocorre uma adesão, denominada de adesão reversível, onde algumas células irão se aderir na superfície metálica por um curto período, mas se soltarão do material em seguida. Essa adesão inicial ocorre devido à atração eletrostática e forças físicas, como a ação da gravidade. Contudo algumas bactérias que foram aderidas de modo reversível secretarão moléculas que permitirão a sua adesão permanente na superfície do material, tornando-se então irreversivelmente aderidas, como se pode observar na figura 17.^{23, 34}

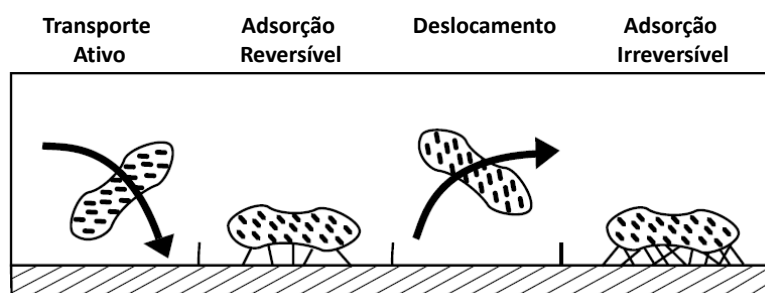


Figura 17 – Esquema representativo da sequência das etapas de adesão microbiana em um substrato sólido. Adaptado de Edestron²⁴.

As bactérias aderidas excretam material polimérico aumentando a sua adesão. Esse material polimérico que forma o glicocálix é constituído de grupos de polissacarídeos carregados ou neutros que facilita a adesão e também atua como um sistema de troca de íons para aprisionar e concentrar traços de nutrientes provenientes do meio. Observa-se que o glicocálix presente na parede celular bacteriana pode também atuar como protetor das células aderidas amenizando os efeitos dos biocidas e de outras substâncias tóxicas.³⁴

Depois que há o acúmulo de material orgânico e a adesão bacteriana irreversível ocorre o desenvolvimento e multiplicação dos microrganismos pioneiros resultando no estabelecimento de colônias de bactérias. Esses organismos produzirão mais substâncias poliméricas extracelulares (EPS em inglês) aumentando assim o volume das trocas iônicas na superfície metálica de forma considerável. Os EPS além de imobilizarem os nutrientes necessários para o desenvolvimento das colônias microbianas passam a aprisionar outros microrganismos que estão dispersos no fluido através de interações eletrostáticas e contenção física.^{23, 34}

Diversos microrganismos procariontes e eucariontes são capazes de produzir esse polímero. Os EPS são responsáveis pela integridade estrutural e funcional dos biofilmes além de serem responsáveis pelas propriedades físico-químicas e biológicas dos mesmos. Eles formam uma estrutura de gel tridimensional, altamente hidratada e fazem parte da matriz dos biofilmes onde os organismos estão envolvidos e imobilizados parcialmente (figura 18). Os EPS acabam fornecendo um microambiente para os microrganismos sésseis, condicionado pela natureza físico-química da matriz. A proporção dessas substâncias poliméricas no biofilme podem variar entre 50% a 90% do total da matéria orgânica de um biofilme.^{23, 66, 67}

Segundo Costerton et al⁶⁸ os EPS são formados principalmente por polissacarídeos e talvez por esse motivo eles também sejam denominados de polissacarídeos extracelulares ou exopolissacarídeos.

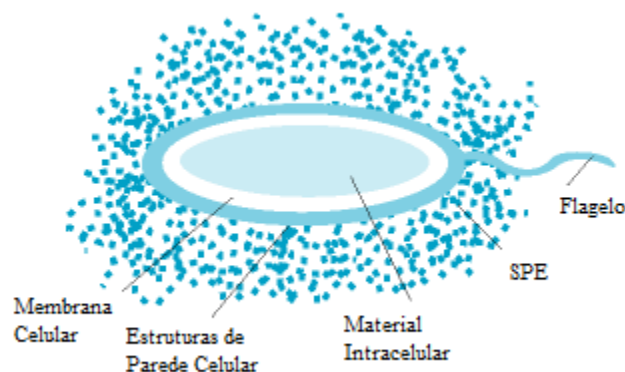


Figura 18 – Esquema de uma bactéria envolta por substâncias poliméricas extracelulares.³⁴

As bactérias redutoras de sulfato são capazes de produzir uma quantidade elevada de EPS, que podem conter diversas substâncias, como polissacarídeos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos.⁶⁹ Estudos bioquímicos e de microscopia apontam que a composição dos EPS livres no meio se difere do que são sintetizados no interior do biofilme.⁷⁰ Os diferentes exopolímeros podem influenciar o processo de adesão dos microrganismos na superfície dos materiais e no processo de formação da matriz que circundará estas células após a adesão.⁷¹

Segundo Borenstein ocorre a associação de outras bactérias à superfície sólida em alguns dias após a colonização dos microrganismos pioneiros.⁷¹ Os organismos que são os colonizadores secundários podem utilizar os produtos metabólicos das bactérias pioneiras ou produzirem seus próprios metabólitos que servirão para outras células bacterianas.

Nas etapas seguintes outras bactérias e mais matéria orgânica e inorgânica se aderem ao biofilme fazendo com que aumente sua espessura e as condições em sua base são alteradas. Porções do biofilme são desprendidas e retornam ao fluido recolonizando áreas próximas e expostas da superfície sólida.

O tempo de exposição do metal ao fluido contendo os microrganismos influencia no processo inicial da colonização e também na estabilidade do biofilme. Outro parâmetro importante é a velocidade de escoamento do fluido que controla a morfologia do biofilme que será formado, pois o fluido em regime laminar forma biofilmes mais espessos, porém pouco aderidos e em regime turbulento produz biofilme menos espesso, no entanto mais aderidos, sendo mais difícil o seu destacamento.

4 Materiais e Métodos

4.1 Materiais

Os corpos de prova foram confeccionados a partir de uma seção do anel de um tubo de aço API 5L X80 contendo uma junta soldada longitudinal. As amostras foram produzidas por usinagem, mantendo a sua superfície original, obtendo-se assim três tipos de cupons de teste: o metal de base (MB) com a superfície original, a junta soldada também com essa superfície e o metal de base que passaria pelo processo de polimento. Os corpos de prova possuem forma retangular com 20 mm de comprimento, 10 mm de largura e 3 mm de espessura com um furo de 3mm de diâmetro em uma das extremidades para poderem se encaixar nas hastes do sistema dinâmico (figura 19). Foram produzidos 36 cupons contendo a junta soldada e 72 cupons do metal de base, aço API 5L X80(36 corpos de prova com a superfície original e 36 com a superfície polida).

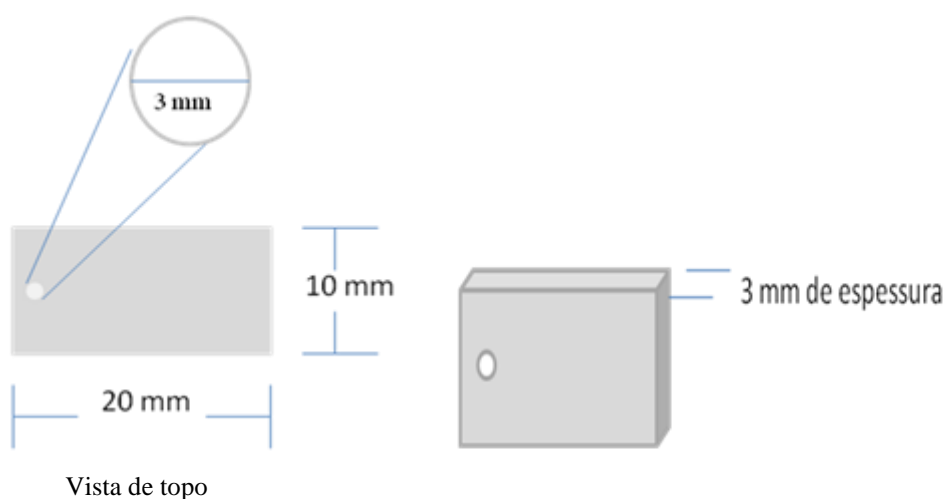


Figura 19 – Vista de topo e lateral do corpo de prova (dimensões em milímetros).

Com o objetivo de determinar a influência da rugosidade na formação do biofilme, 36 corpos de prova do metal de base foram submetidos a polimento com

pasta de diamante com partículas de diâmetro de 6 μm . Foram, portanto, estudadas três condições de superfície, metal de base (MB), junta soldada (JS) e metal de base polido (MBP). A figura 20 retrata as três superfícies analisadas.

Foram analisados por microscopia eletrônica de varredura (MEV) três corpos de prova de cada superfície a ser estudada antes do início do ensaio a fim de caracterizar a superfície antes dos testes com o fluido.

O material utilizado para a confecção dos cupons para os testes é o aço API 5L X80 que é desenvolvido no Brasil pela empresa USIMINAS sendo produzido pelo processo de laminação controlada, que não possui resfriamento acelerado.⁷² A composição química, em porcentagem em massa, do aço API X80 está disposta na tabela 2.

Tabela 2 – Composição química do aço API 5L X80.⁷²

Composição (%)									
C	Si	Mn	Al	Nb	V	Cr	Ni	Ti	N
0,04,	0,18	1,85	0,033	0,73	0,005	0,32	0,03	0,016	0,0037

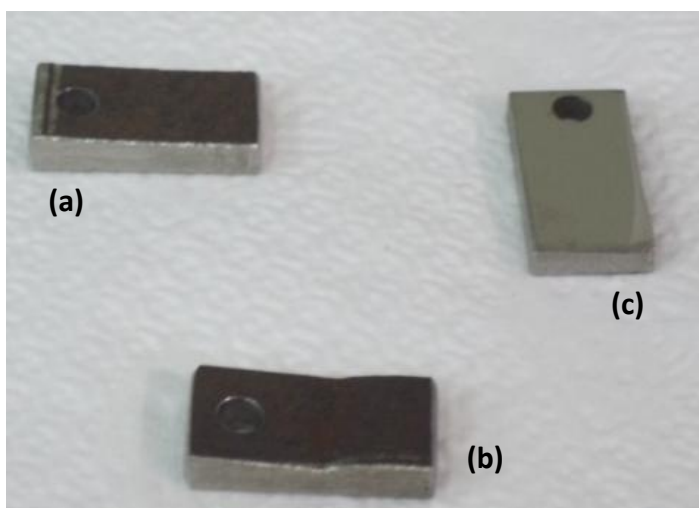


Figura 20 – Imagem dos corpos de prova das três condições de superfície. (a) Metal de base (MB); (b) Junta soldada (JS); (c) Metal de base polido (MBP).

4.2

Fluido de processo.

O fluido de escoamento utilizado no sistema dinâmico durante os ensaios foi coletado na baía de Guanabara, próximo a Ilha do Governador. Foram realizados três testes e para teste foi feita uma coleta de fluido, sendo que elas foram feitas no mesmo lugar e horário a fim de evitar variações significativas na microbiota, mantendo constância na concentração dos diferentes componentes, apesar de terem sido feitas em épocas distintas. A escolha deste local foi realizada por conter os diferentes grupos microbianos previamente mencionados como objetivos do trabalho. O alto grau de poluição e elevados níveis de matéria orgânica deste fluido favorece o crescimento e desenvolvimento dos microrganismos.⁷³

As análises químicas foram realizadas no laboratório de caracterização de águas situado na PUC-Rio sob a supervisão do professor Dr. José Godoy e os limites estão de acordo com a Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – RDC nº 274 de 22 de Setembro de 2005.

Já a análise de ferro total foi realizada pela técnica de espectrometria de absorção atômica pelo laboratório de caracterização de combustíveis situado na PUC-Rio sob a supervisão da professora Dra. Maria Isabel Pais da Silva.

4.3

Meios de cultura e soluções utilizadas

Diferentes meios de cultura foram preparados com a finalidade de detectar e quantificar os distintos grupos de bactérias que foram estudados. A seguir a descrição dos meios preparados e das soluções utilizadas.

4.3.1 Solução redutora

A solução redutora foi utilizada em diferentes etapas do experimento, com os seguintes objetivos: preservar o biofilme bacteriano para posterior raspagem do biofilme aderido nos corpos de prova de modo a permitir a contagem microbiana, agindo como solução diluidora para a quantificação das bactérias anaeróbicas. A composição da solução está disposta na tabela 3 cujo seu preparo foi realizado com água do mar sintética, sob purga de nitrogênio para retirar o oxigênio dissolvido nela. O pH foi corrigido para 7,8 e a solução produzida foi distribuída em frascos de penicilina, tampados, lacrados e esterilizados por 20 minutos na autoclave a 121°C (1,1 kgf/cm²).²³

Tabela 3 – Composição da solução redutora para 1L.

Reagentes	Quantidades
Tioglicolato de sódio	0,124 g
Ácido ascórbico	0,1 g
Solução de Resazurina (0,025% p/v)	4 mL

4.3.2 Meios de cultura para bactérias anaeróbicas

Os meios preparados para as bactérias anaeróbicas precisam conter baixas concentrações de oxigênio, pois altas concentrações desse gás inibem o seu crescimento. Cada grupo de bactéria possui um meio de cultura que propicia seu desenvolvimento e crescimento, contendo os nutrientes necessários. A seguir estão descritos os meios produzidos para os grupos bacterianos anaeróbicos estudados.

4.3.2.1

Meio de cultura para bactérias anaeróbicas heterotróficas (BANHT)

Este meio foi produzido com os nutrientes necessários para o desenvolvimento preferencial desse grupo de bactérias. Para prepará-lo foi utilizada água do mar sintética (tabela 4) e os componentes descritos na tabela 5 foram adicionados à água sob purga de nitrogênio durante todo o processo. O pH foi ajustado para 7,8 e ao final do preparo o meio foi distribuído e acondicionado em frascos de penicilina de 10 mL, tampados e lacrados. Os frascos contendo o meio preparado foram então esterilizados por 20 minutos na autoclave a 121°C (1,1 kgf/cm²).

Tabela 4 – Composição da água do mar sintética para 10L.

Ordem de adição	Reagentes	Quantidades
1	NaF	0,03 g
2	SrCl ₂ .6H ₂ O	0,20 g
3	H ₃ BO ₃	0,30 g
4	KBr	1,0 g
5	KCl	7,0 g
6	CaCl ₂	11,13 g
7	Na ₂ SO ₄	40,0 g
8	MgCl ₂ . 6H ₂ O	107,80g
9	NaCl	235,0(*)g
10	NaSiO ₃ . 9H ₂ O	0,20g
11	Na ₂ EDTA	0,0089g
12	NaHCO ₃	2,00g

Tabela 5 – Composição do meio de cultura para BANHT para 1L.

Ordem de adição	Reagentes	Quantidades
1	Água do mar sintética	1000 mL
2	Glicose	5,0 g
3	Peptona Universal	4,0 g
4	Extrato de levedura	1,0 g
5	Solução de Resazurina (0,025% p/v)	4,0 mL

4.3.2.2

Meio “Postgate”E modificado

É um meio nutritivo o qual propicia o desenvolvimento e crescimento das bactérias redutoras de sulfato (BRS).⁵³ A composição está indicada na tabela 6. Este meio deve ser preparado em anaerobiose e a solução de resazurina foi utilizada como indicador de oxigênio dissolvido. Já o sal de ferro é utilizado como indicador do crescimento desse grupo bacteriano ao formar um precipitado negro de sulfeto ferroso (FeS) que escurece o meio, evidenciando que o sulfato presente no meio foi reduzido à sulfeto por elas durante sua respiração celular.

Essas bactérias crescem preferencialmente aderidas nas superfícies e para propiciar essa situação utiliza-se ágar-agar a uma concentração de 1,9 g/L para produzir um meio semi-sólido.⁷⁴

O preparo do meio realizou-se sob purga de nitrogênio para retirar o oxigênio dissolvido, mantendo-o em anaerobiose a qual pode ser observada pela mudança de cor da resazurina de azul para rosa. Posteriormente o meio foi distribuído em frascos de penicilina de 10 mL, tampados e lacrados. Os frascos contendo o meio preparado foram então esterilizados por 20 minutos na autoclave a 121°C (1,1 kgf/cm²).

Tabela 6 – Composição do meio de cultura Postgate E modificado para 1L.

Ordem de adição	Reagentes	Quantidades
1	Água do mar sintética	1000 mL
2	Ágar –ágar	1,9 g
3	Na ₂ SO ₄	1,0 g
4	KH ₂ PO ₄	0,5 g
5	NH ₄ Cl	1,0 g
6	MgCl ₂ . 6H ₂ O	1,83 g
7	CaCl ₂ . 6H ₂ O	1,0 g
8	Extrato de levedura	1,0 g
9	Ácido ascórbico	0,1 g
10	Lactato de sódio (50% p/v)	7,0 mL
11	Solução de Resazurina (0,025% p/v)	4,0 mL
12	FeSO ₄ . 7H ₂ O	0,5 g

4.3.3 Meios de cultura para bactérias aeróbias

As bactérias aeróbias utilizam o oxigênio comoceptor final de elétrons em sua respiração celular, sendo necessário para o desenvolvimento desses microrganismos. Para o cultivo desse grupo de bactérias foi utilizado a técnica de inoculação em profundidade (“pour plate”) onde o meio nutritivo é empregado de forma sólida. Essa técnica permite determinar a densidade bacteriana utilizando o meio nutricional sólido na placa de Petri para obter colônias isoladas.

A seguir estão descritos os meios produzidos para os grupos bacterianos anaeróbicos estudados.

4.3.3.1

Meio de cultura para as bactérias facultativas heterotróficas (BFHT)

Para o desenvolvimento do grupo das BFHT foi produzido um meio de cultura e uma solução salina, utilizada como uma solução diluidora, conforme as tabelas 7 e 8. Os componentes do meio foram misturados e o pH foi ajustado para 6,6 e o meio produzido foi distribuído em um frasco Schott (1L) que foi esterilizado por 20 minutos na autoclave a 111°C (0,5 kgf/cm²). Já a solução salina foi preparada, distribuída e acondicionada em tubos de ensaio que foram esterilizados por 20 minutos na autoclave a 121°C (1,1 kgf/cm²).

Tabela 7 – Composição do meio de cultura para BFHT para 1L.

Ordem de adição	Reagentes	Quantidades
1	Água do mar sintética	1000 mL
2	Ágar –ágar	15,0 g
3	C ₆ H ₅ O ₇ Fe.H ₂ O	0,1 g
4	Glicose	1,0 g
5	Peptona Universal	5,0 g
6	Extrato de levedura	1,0 g

Tabela 8 – Composição da solução salina para BFHT para 1L.

Reagentes	Quantidades
NaCl	9,0 g

4.3.3.2

Meio de cultura para as bactérias precipitantes do ferro (BPF)

Para o cultivo das bactérias precipitantes do ferro (BPF) preparou-se o meio próprio para o seu crescimento e uma solução diluidora que estão nas tabelas 9 e 10. Os componentes do meio foram misturados e o pH foi ajustado para 6,6 e o

meio produzido foi distribuído em um frasco Schott (1L) que foi esterilizado por 20 minutos na autoclave a 121°C (1,1 kgf/cm²). A solução diluidora foi preparada, distribuída e acondicionada em tubos de ensaio que foram esterilizados por 20 minutos na autoclave a 121°C (1,1 kgf/cm²).

Tabela 9 – Composição do meio de cultura para BPF para 1L.

Ordem de adição	Reagentes	Quantidades
1	Água do mar sintética	1000 mL
2	Ágar –ágar	15,0 g
3	C ₆ H ₁₁ FeNO ₇	10,0 g
4	K ₂ HPO ₄	0,5 g
5	CaCl ₂	0,1 g
6	MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,5 g
7	NaNO ₃	0,5 g
8	(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5 g

Tabela 10 – Composição da solução diluidora para BPF para 1L.

	Reagentes	Quantidades
Solução A	KH ₂ PO ₄	34,0 g
Solução B	MgCl ₂ . 6H ₂ O	81,1 g

4.4 Ensaio dinâmico

Os ensaios dinâmicos foram realizados em um sistema fechado “looping”, confeccionado em acrílico, conforme o esquema da figura 21. A célula cilíndrica tem diâmetro de 10 cm e possui capacidade de aproximadamente 1,5 L. Este sistema busca simular as condições de campo, onde não há variações significativas de vazão.

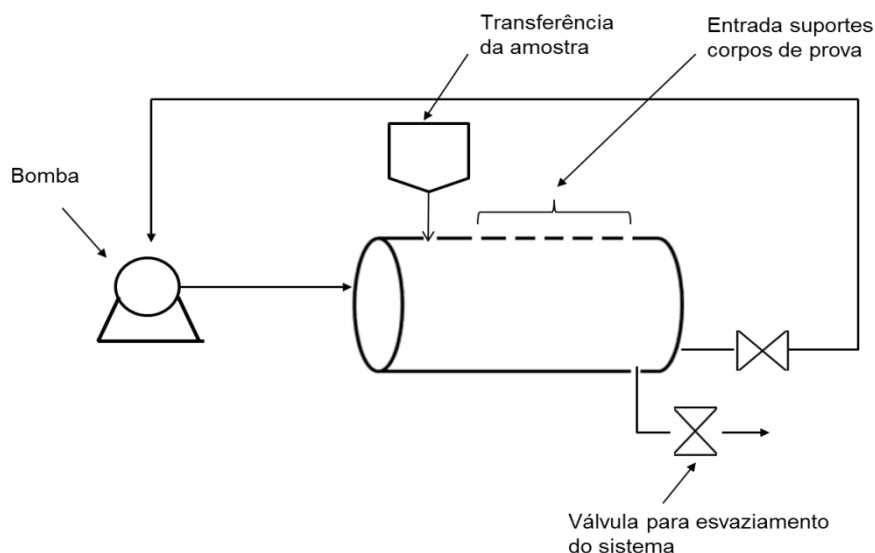


Figura 21 – Esquema simplificado do sistema dinâmico (looping).

A circulação do fluido foi realizada com o auxílio de uma bomba magnética, modelo MD-10 da Emerson, cuja vazão máxima desempenhada é igual a 11,0L/min ($1,83 \times 10^{-4} \text{ m}^3/\text{s}$), com diâmetros de sucção e de descarga de 14 mm. A bomba foi conectada à célula cilíndrica através de conexões de material polimérico com diâmetro igual a 8,62 mm. A velocidade de escoamento do fluido, considerando a vazão desempenhada pela bomba e o diâmetro da célula cilíndrica, foi de 0,02 m/s.

Na forma de hastes confeccionadas de material polimérico (figura 22), os suportes dos corpos de prova foram posicionados na parte superior da célula cilíndrica onde os cupons foram colocados de maneira uniforme. Nesse sistema foram acoplados os corpos de prova suportados em hastes de PVC a fim de o fluxo do fluido de processo fosse tangencial a superfícies dos cupons testados (figura 23).



Figura 22 – Haste com os corpos de prova inseridos.



Figura 23 – Sistema dinâmico com os corpos de prova inseridos.

Realizaram-se ao longo deste trabalho três ensaios dinâmicos a fim de se obter uma variação estatística (desvio padrão) para esse projeto. Para cada teste o fluido utilizado era coletado no mesmo local e no mesmo horário apesar de ser em diferentes épocas do ano e em cada teste a posição dos corpos de prova acoplados nas hastes foi modificada a fim de que todas as condições estudadas (MB, JS e MB polido) estivessem sujeitos às mesmas condições (figura 24). Os três ensaios mantiveram as mesmas condições operacionais, diferenciando apenas a posição dos corpos de prova ao longo da haste e o fluido de processo que foi coletado em diferentes épocas do ano, apesar de ter sido coletada no mesmo local e horário.

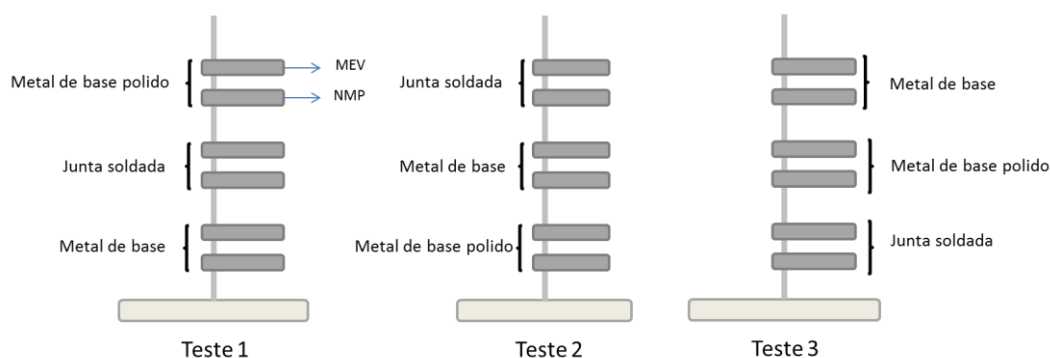


Figura 24 – Esquema representativo da posição dos corpos de prova nos três ensaios.

Os ensaios foram realizados a temperatura ambiente e pH inicial de 7,5. Antes de iniciar cada teste foi feito previamente um inóculo com o fluido coletado para cultivar as BRS em meio de cultura propício para seu crescimento. Em cada ensaio utilizou-se 1,5 L de água do mar coletada na Baía de Guanabara acrescida

de 2 mL desse inóculo de BRS. Essa adição foi necessária em virtude da baixa quantidade de microrganismos pertencentes a esse grupo, que é importante para o estudo da corrosão microbiana. Foi necessário o acréscimo apenas desse grupo bacteriano que tinha em pouca quantidade no fluido coletado.

O fluido utilizado para os testes possui uma viscosidade cinemática, ν , de $0,9019 \text{ mm}^2/\text{s} \pm 0,0031$, uma massa específica, ρ , de $1,0188 \text{ g/cm}^3 \pm 0,0004$ e para a vazão utilizada nos testes de $0,66 \text{ m}^3/\text{h}$ (11 L/min) o número de Reynolds obtido para o escoamento do fluido de processo é $2,58 \times 10^3$. De acordo com número de Reynolds obtido, pode-se constatar que o escoamento considerado é transiente, visto que o escoamento é considerado transiente para o número de Reynolds variando entre 2000 a 4.000.

O estudo da cinética da formação do biofilme foi realizado com a retirada dos corpos de prova do sistema dinâmico contendo o fluido de processo (água do mar da Baía de Guanabara) em diversos tempos e estes eram processados para realizar as análises microbiológicas e de microscopias. Foram feitos três ensaios cinéticos.

As conexões e os suportes foram acoplados à célula cilíndrica, como se observa na figura 23. O fluido do processo foi colocado e o sistema foi inicializado. Importante enfatizar que as superfícies a serem analisadas nos corpos de prova estão na mesma direção do fluxo de modo a simular as condições de campo, o fluxo do fluido tangencial à superfície dos cupons (figura 25).



Figura 25 – Direção do fluxo do fluido em relação à superfície a ser analisada dos corpos de prova. Fluxo tangencial à superfície dos cupons.

Em cada ensaio as amostras foram retiradas nos seguintes tempos: 24 horas, 48 horas, 192 horas (8 dias), 354 horas (aproximadamente 15 dias), 546 horas (aproximadamente 23 dias) e 840 horas (35 dias), totalizando seis tempos.

Observa-se na figura 23 que há apenas lugar para cinco hastes e a sexta era colocada após a retirada da primeira amostra, no tempo de 24 horas.

Em todo ensaio havia um par de corpos de prova para cada superfície a ser analisada em cada haste, sendo um para a análise de MEV e o outro para a quantificação microbiológica e contagem de pite, como pode ser visto na figura 24. Foram utilizados em cada teste doze corpos de prova para cada superfície a ser analisada (metal de base polido, metal de base e junta soldada ambos com a superfície original dos dutos).

A figura 26 mostra o sistema após 24 horas de exposição dos corpos de prova ao fluido de processo. Já a figura 27 retrata a retirada dos corpos de prova. Essa retirada ocorreu de forma asséptica, pois o sistema não poderia ser desligado para então ser levado à câmara de fluxo para proceder com a retirada septicamente porque o fluxo do fluido não poderia ser interrompido, pois caso contrário não estaria simulando as condições de campo.

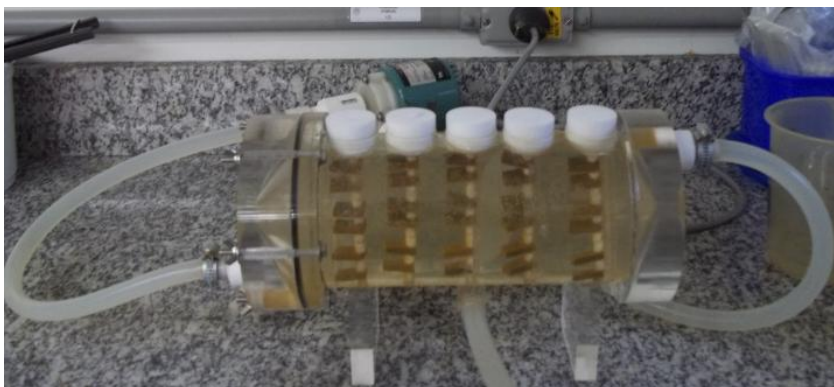


Figura 26 – Ensaio dinâmico após 24 horas de exposição dos corpos de prova ao fluido de processo.



Figura 27 – Retirada dos corpos de prova para as análises.

Os corpos de prova selecionados para a quantificação microbiológica foram coletados em solução redutora que preserva o biofilme formado na superfície do metal para posteriormente serem utilizados na etapa da quantificação microbiana. Já os corpos de prova destinados à microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram recolhidos em solução salina a 30% (30 mL de água destilada e 70 mL de água do mar sintética) para serem tratados para posterior análise. Esse procedimento já faz parte da primeira etapa de processamento da amostra para o MEV que é dessalinização, onde se inicia com 30% até finalizar em água destilada pura. Esta etapa tem que ser realizada aos poucos a fim de evitar variação significativa da pressão osmótica que pode causar a lise das células.

Após a retirada dos corpos de prova do sistema de “looping” em cada tempo estudado, coletou-se 40 mL do fluido para quantificar os grupos microbianos planctônicos e para fazer a análise de cromatografia de íons para determinar as quantidades dos ânions orgânicos e sulfato (figura 28). Vale ressaltar que no início de cada ensaio é retirada uma alíquota de mesmo volume para fazer a análise de cromatografia, correspondendo ao tempo zero do teste que servirá de base para a comparação com os outros tempos.



Figura 28 – Coleta de amostra para quantificação das bactérias planctônicas.

No início e no final dos ensaios também foram coletados 250 mL do fluido que foram direcionados para a análise de ferro total por absorção atômica importante para determinar a decomposição do material.

4.5

Detecção e quantificação microbiana

A etapa da quantificação microbiológica foi realizada no fluido de processo (bactérias planctônicas) e no biofilme que ficou aderido na superfície dos corpos de prova (bactérias sésseis).

Esta etapa foi desenvolvida para todos os tempos em que houve a retirada dos corpos de prova, como foi previamente mencionado, a fim de verificar a cinética de formação do biofilme nas superfícies metálicas.

Para quantificar as bactérias planctônicas coletou-se 40 mL do fluido de processo em um frasco de penicilina estéril após a retirada dos cupons em cada tempo da cinética.

Para a quantificação das bactérias sésseis realizou-se a raspagem através de ação mecânica utilizando espátula de material polimérico. Esse procedimento foi realizado de forma séptica em uma câmara de fluxo laminar a fim de evitar contaminação por outros microrganismos. Utilizou-se solução redutora para a formação da suspensão celular.

Posteriormente, o fluido coletado e a suspensão formada pelas bactérias sésseis foram inoculadas nos meios específicos para cada tipo de microrganismo estudado, conforme descrito no subitem 4.3.

Para a quantificação dos grupos das BRS e BANHT foi realizada a técnica das diluições sucessivas para obter o número mais provável de bactérias presentes na amostra, inoculando-as em kits previamente preparados com os meios característicos. Foi feita triplicata (três kits) para cada amostra obtida (sésil e planctônica) em cada tempo e para cada grupo microbiano. As amostras foram manipuladas em câmara de fluxo laminar para evitar contaminação por outros grupos de microrganismos.

No caso das BPF e BFHT foi realizada a técnica de plaqueamento pelo método “pour plate” onde a diluição utilizada foi até 10^6 sendo feita triplicata por diluição para cada amostra obtida (sésil e planctônica) em cada tempo e para cada grupo bacteriano. A inoculação também foi realizada em câmara de fluxo para manter a assepsia, evitando assim contaminações indesejadas. Após o período de incubação foi feita a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC).

As placas e os kits foram incubados em estufas específicas, bacteriológicas, a $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ para posterior contagem. Os microrganismos aeróbios precisam de pouco tempo de incubação para obter os resultados sendo 2 dias para as BFHT e 5 dias para as BPF. Já os anaeróbios necessitam de mais tempo para obter um resultado final da contagem, sendo necessários 28 dias. No entanto leituras diárias dos kits foram realizadas a fim de verificar a atividade bacteriana dos anaeróbios até se observar um crescimento positivo que foi identificado pela formação de um precipitado de cor preta (formação de sulfato ferroso) para o grupo das BRS e mudança de cor nos meios das BANHT. A classificação da atividade bacteriana obtida através da observação até obter um crescimento positivo deve atender à classificação disposta na tabela 11.

Tabela 11 – Classificação da atividade bacteriana dos anaeróbios. Fonte: Gaylarde e Videla.²⁹

Número de dias (d)	Atividade
$d \geq 14$	Baixa
$5 \leq d \leq 14$	Média
$d \leq 5$	Alta

4.6

Análises por microscopia eletrônica

4.6.1

Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) e Energia dispersiva de raios X (EDS)

Realizaram-se as análises por MEV e EDS nos corpos de prova antes e após serem retirados do sistema dinâmico. Os cupons expostos ao fluido de processo foram retirados da célula e submetidos aos procedimentos de tratamento para amostras biológicas para análises de MEV. Para realizar essa análise o material biológico deve estar dessalinizado, desidratado e seco.

Inicialmente foi feita a etapa de dessalinização onde são realizadas lavagens sucessivas em soluções de água do mar e água destilada estéreis em diferentes proporções iniciando com a solução mais concentrada (70% de água do mar sintética e 30% de água destilada) e finalizando com água destilada pura (figura 29a).²³ Esse procedimento foi feito para retirar os sais contidos nos corpos de prova, os quais poderiam interferir na análise e deve ser feito gradativamente a fim de evitar variações significativas na pressão osmótica que poderia danificar os microrganismos presentes na superfície dos materiais analisados. A etapa seguinte foi a de fixação, na qual os corpos de prova ficaram por três horas em uma solução de glutaraldeído em tampão cacodilato.²³

Em seguida, realizou-se a etapa de desidratação, onde os cupons foram inseridos em diferentes soluções com concentrações crescentes de acetona em água destilada, iniciando com a mais diluída (30% v/v) para a acetona pura (100% v/v).¹⁵ Essa metodologia tem por finalidade retirar gradativamente a água contida no interior das bactérias de modo a não danificá-las quando estas são submetidas à etapa de secagem (figura 29b). Pelo fato dessa etapa ser gradativa ela não danifica as bactérias presentes nos corpos de prova.⁷⁵

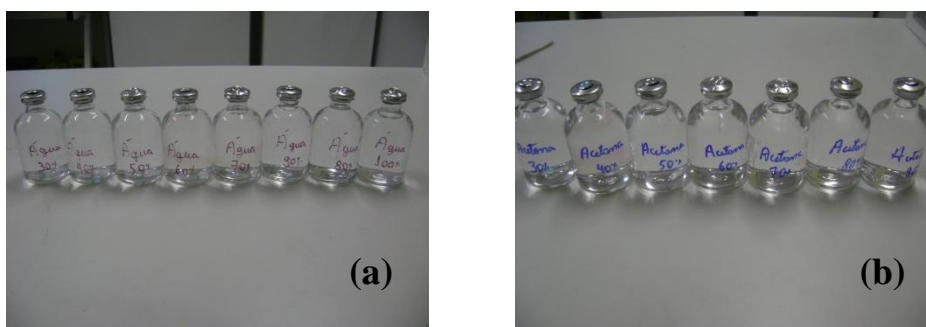


Figura 29 – (a) Etapa de dessalinização; (b) Etapa de desidratação.

O próximo passo do preparo das amostras para o MEV foi a secagem realizada no Ponto Crítico de CO₂, modelo CPD-030 da Balzers. Este procedimento tem por objetivo de retirar o restante da água que poderia estar contida na amostra a fim de que todo o líquido presente na amostra se converta em gás, evitando assim o efeito de tensão superficial sobre a amostra.⁷⁶

Em seguida as amostras foram metalizadas no equipamento Sputter Coater Bal-Tec SCD 005 utilizando alvo de prata, pois a amostra precisa ser condutora a

fim de conduzir os elétrons absorvidos por ela para o fio terra para poder gerar imagens com boa resolução.⁷⁶ Utiliza-se a prata ao invés do ouro na metalização para permitir a observação de enxofre presente nas amostras.

As amostras foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura para a visualização dos biofilmes formados. As análises foram realizadas no microscópio eletrônico de varredura modelo Jeol JSM-6510LV. Microanálise de por dispersão de energia (EDS) foi realizada de modo a identificar a presença de enxofre nesses biofilmes.

4.6.2

Microscopia óptica – Contagem de pite

A presença de microrganismos causa corrosão localizada na superfície metálica. De modo a observar o desenvolvimento desse tipo de corrosão utilizou-se a contagem de pites, uma análise importante para a observação do desenvolvimento da corrosão localizada.

Os corpos de prova utilizados para a contagem de pites foram os mesmos para a quantificação microbiana. Desse modo os corpos de prova foram conservados em verniz para posteriormente serem analisados. Para a retirada do verniz estes corpos de prova foram inseridos em acetona e levados ao ultrassom por aproximadamente 10 minutos. Em seguida foram submetidos a decapagem ácida de acordo com a norma NBR 9771 de Março de 1987 utilizando uma solução de Clarke com a finalidade de retirar todo o produto de corrosão depositado sob as amostras. Após decapagem os cupons foram lavados com água destilada e com acetona e submetidos a contagem de pites. Na contagem de pite quinze áreas foram analisadas por microscopia óptica medindo a área (abertura) e a profundidade de cada pite conforme a norma Standard Guide for Examination and Evaluation of Pitting Corrosion (G 46-94) e foi mensurada também a densidade de pites.

As análises de pite foram realizadas no microscópio óptico modelo Imager M2m da Zeiss. Realizou-se também a medida da densidade de pites, mas não foi feita a medida da perda de massa porque essa perda não é tão significativa em

virtude do pouco tempo de exposição ao fluido de processo, não tendo tempo hábil para uma corrosão mais acentuada.

4.7

Análises químicas

4.7.1

Cromatografia iônica

Método físico-químico de separação de substâncias que apresenta duas fases, uma fase móvel e uma estacionária. Esta técnica proporciona a separação dos componentes da amostra de acordo com a diferença de interação entre estes e as fases e separa as espécies iônicas de interesse. Nesse método a separação ocorre quando os componentes da amostra são carregados pela fase móvel, denominada de eluente, migram e interagem com a fase estacionária. As substâncias que tiverem maior afinidade pela fase estacionária ficarão retidas por mais tempo na coluna e migrarão mais lentamente quando comparados aos componentes que possuem maior afinidade pela fase móvel.

As amostras coletadas foram preparadas previamente para em seguida serem analisadas pelo cromatógrafo. Elas foram processadas da seguinte maneira:

- 1) Amostras submetidas a um sistema de microfiltração Millipore com membrana de 0,22 μ m de porosidade com a finalidade de retirar particulados e células que possam existir na amostra.
- 2) Realizou-se previamente uma diluição das amostras que possuíam os íons de interesse em concentrações mais elevadas do que a curva padrão do aparelho.
- 3) Após o preparo foi injetada 1mL da amostra no equipamento.

As quantidades dos ânions de interesse (sulfato, lactato, acetato e formiato) foram determinadas utilizando o equipamento de cromatógrafo de íons modelo 761 Compact IC da Metrohm contendo uma coluna de ânions e um condutor condutimétrico com as respectivas especificações: Metrosep A SUPP 5 e 732 IC da Metrohm. Utiliza como fase móvel uma solução que contém 3,2mM/L de

carbonato de sódio e 1,0mM/L de bicarbonato de sódio a uma vazão de 0,7 mL/min. O procedimento para a análise seguiu o mesmo protocolo descrito por Pagnin.⁹

4.7.2

Espectrometria de absorção atômica

A absorção da luz por meio de átomos oferece uma ferramenta analítica poderosa para as análises quantitativas e qualitativas. A espectroscopia de absorção atômica (AAS) baseia-se no princípio que estabelece que os átomos livres em estado estável possam absorver a luz a certo comprimento de onda. A absorção é específica a cada elemento, nenhum outro elemento absorve este comprimento de onda.

A AAS é um método utilizado para a análise de traços de metal de amostras biológicas, metalúrgicas, farmacêuticas e atmosféricas. A determinação espectroscópica de espécies pode ser realizada somente em uma amostra gaseificada na qual os átomos individuais tais como Ag, Al, Au, Fe, e Mg, estão bem separados um dos outros.

As amostras foram coletadas e mantidas sob refrigeração até o momento da análise. A determinação do teor de ferro presente nas amostras foi feita, utilizando um equipamento VARIAN modelo spectrAA-200 do laboratório de caracterização de combustíveis situado na PUC-Rio.

4.8

Análise de Rugosidade

A análise da rugosidade superficial foi realizada nem três corpos de prova das diferentes superfícies antes do ensaio pelo rugosímetro FormTalysurf 50 da marca Taylor Hobson.

Antes de iniciar a medição o mensurando deve passar pela inspeção visual, com o objetivo de avaliar o estado de sua superfície. Para iniciar a medição o mensurando deve estar limpo e a temperatura de calibração deve estar na faixa de 19°C a 21°C.

Para a medição dos corpos de prova foram realizadas, no mínimo, cinco medições em posições diferentes distribuídas pela superfície, essas com três leituras para cada posição, quando necessário. O parâmetro analisado foi o da rugosidade média (R_a).

5 Resultados

No presente trabalho foram realizados dois estudos comparativos. No primeiro estudo propôs-se avaliar a cinética de formação de biofilme em superfícies com características microestruturais diferentes, o metal de base e a junta soldada obtida pelo processo SAW (soldagem por arco submerso), visto que as diferentes superfícies de um material, seja por natureza química ou física, podem limitar ou facilitar a adesão microbiana. O segundo estudo visou avaliar a influência da rugosidade superficial na adesão microbiana utilizando dois tipos de superfície: aço API X80 com a rugosidade original e o aço API X80 polido com pasta de diamante com granulação de 6µm.

5.1 Caracterização

5.1.1 Fluido de processo

O fluido de processo foi caracterizado e os resultados apresentados na tabela 12 são relativos a uma média aritmética dos resultados de cada parâmetro para as três coletas realizadas.

As águas da Baía de Guanabara são frequentemente poluídas por petróleo e seus derivados, além de contaminação proveniente de esgoto sanitário, o que torna a microbiota desse local adaptada a diferentes fontes de carbono. De acordo com a literatura existe uma demanda química de oxigênio (DQO) em torno de 932 mg/L, a demanda bioquímica de oxigênio (DBO) em torno de 230 mg/L evidenciando assim o elevado nível de matéria orgânica presente nessa água.⁷³ Análises de carbono orgânico total também são utilizadas para caracterizar a poluição orgânica em águas salinas, segundo a Resolução CONAMA 357/2005. De acordo com alguns autores a quantidade de carbono orgânico total desse local varia de 4,5

a 6,0% tendo valores mais altos próximos à zona portuária.⁷⁷ No presente estudo essas análises não foram realizadas.

Na tabela 12 encontra-se a caracterização do fluido utilizado nos testes e na tabela 13 a média da quantidade de ferro total encontrado no fluido antes e depois dos ensaios.

Tabela 12 – Caracterização química da água coletada na Baía de Guanabara.

Análise	Água do mar
Aspecto natural	Límpido e incolor
pH a 25°C	7,656
Sólidos em suspensão	Ausente
Condutividade a 25°C (mhos/cm)	$4,6 \times 10^{-2}$
Resíduo de evaporação a 180°C (mg/L)	$2,94 \times 10^4$
Turbidez (uT)	2,0
Sulfatos (SO_4^{-2}) (mg/L)	$2,58 \times 10^3$
Cloreto (Cl^-) (mg/L)	$1,8 \times 10^4$
Brometo (Br^-) (mg/L)	<100
Alcalinidade total em CaCO_3 (mg/L)	114
Bicarbonatos em HCO_3^- (mg/L)	139
Fosfato em HPO_4^- (mg/L)	<100

Tabela 13 – Quantidade de ferro total da água coletada na Baía de Guanabara.

Análise	Água do mar (mg/L)
Antes do ensaio	$0,19 \pm 0,127$
Depois do ensaio	$0,45 \pm 0,071$

5.1.2 Análise da Rugosidade Superficial

O processo de adesão microbiana em uma superfície sólida é influenciado pela topografia da superfície do substrato.⁷⁸ Segundo Hilbert et al⁴⁴ a adesão de bactérias em uma superfície depende de diversos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos, sendo a topografia da superfície o parâmetro mais amplamente estudado.

Muitos parâmetros têm sido utilizados para caracterizar a superfície de um material, sendo a rugosidade média (R_a) o critério mais amplamente utilizado.³⁴ Para a determinação da rugosidade superficial foram analisados três corpos de prova de cada material (aço API X80 com rugosidade original, junta soldada com rugosidade original e aço API X80 polido com pasta de diamante com granulometria de 6 μ m) e em cada cupom foram analisadas três regiões a fim de se obter um perfil de rugosidade.

Na tabela 14 está indicado o valor do parâmetro R_a para cada superfície e observa-se que o metal de base possui um valor levemente maior do que a junta soldada.

Observa-se que há uma dificuldade no destacamento do biofilme aderido na superfície do substrato quando se aumenta os valores do parâmetro R_a em superfícies rugosas tornando a quantificação microbiana mais complexa. Foi observada, através de ensaios em microscopia, que os microrganismos ficam localizados em pites e em canais nas superfícies rugosas.⁷⁸

Tabela 14 – Avaliação da rugosidade superficial dos corpos de prova antes dos ensaios.

Materiais	R_a (μm)	Desvio padrão
Metal de base	3,657	0,405
Junta soldada	3,219	0,345
Metal de base polido	0,025	0,014

A seguir está disposto o perfil de rugosidade para cada superfície analisada.

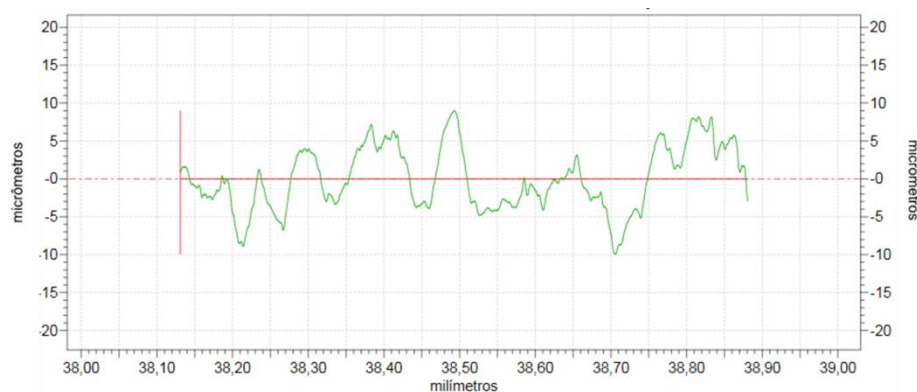


Figura 30 – Perfil de rugosidade do cupom de teste do aço API X80 antes do ensaio dinâmico.

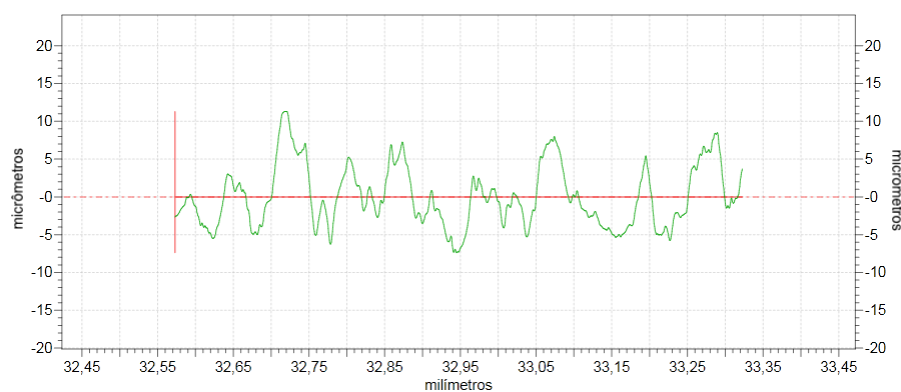


Figura 31 – Perfil de rugosidade do cupom de teste da junta soldada antes do ensaio dinâmico.

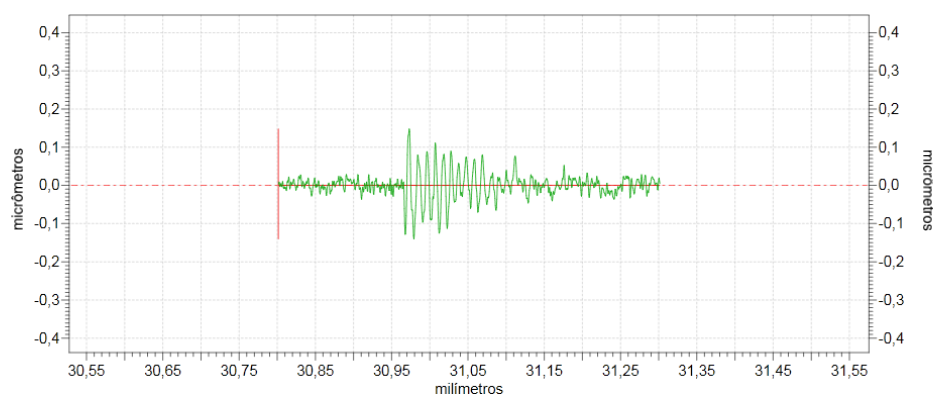


Figura 32 – Perfil de rugosidade do cupom de teste do aço API X80 polido com pasta de diamante com granulidade de 6µm antes do ensaio dinâmico.

Foi realizada também a análise da rugosidade dos mesmos corpos de prova através da análise de microscopia óptica para obtenção de representações da topografia da superfície desses cupons em 3D. A seguir estão dispostas as

representações das topografias de cada material juntamente com a imagem formada.

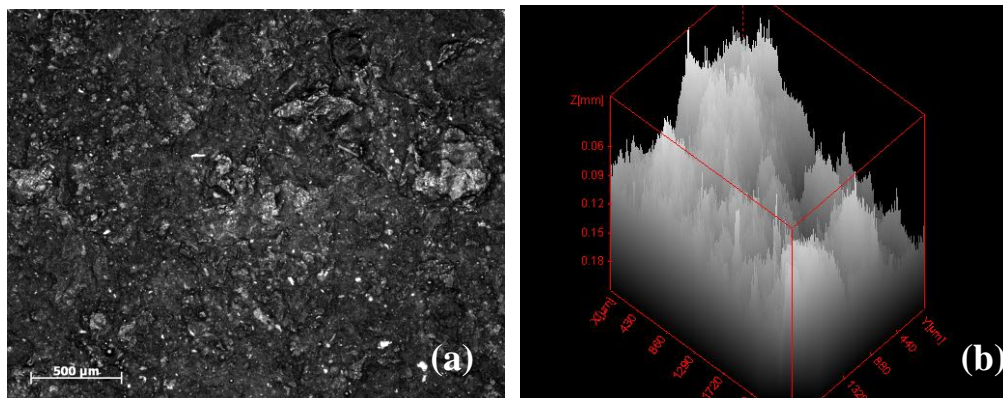


Figura 33 – Aço API X80 com rugosidade original. (a) Imagem da região do cupom analisada; (b) representação da topografia da superfície analisada.

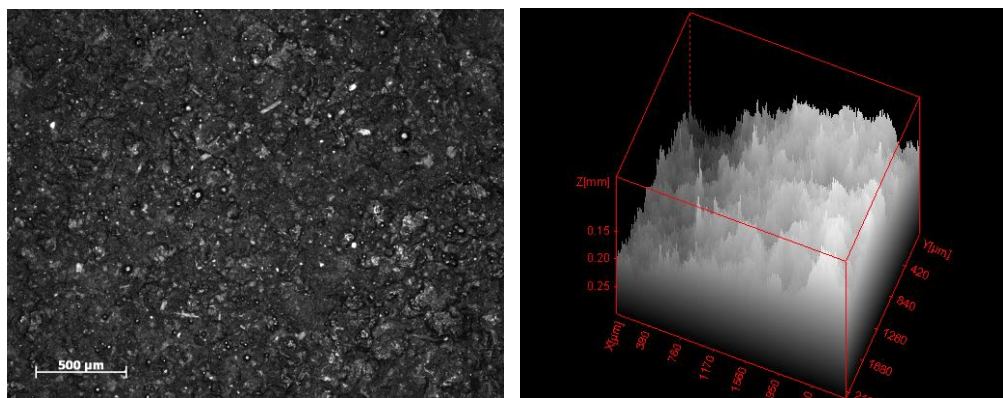


Figura 34 – Junta soldada. (a) Imagem da região do cupom analisada; (b) representação da topografia da superfície analisada.

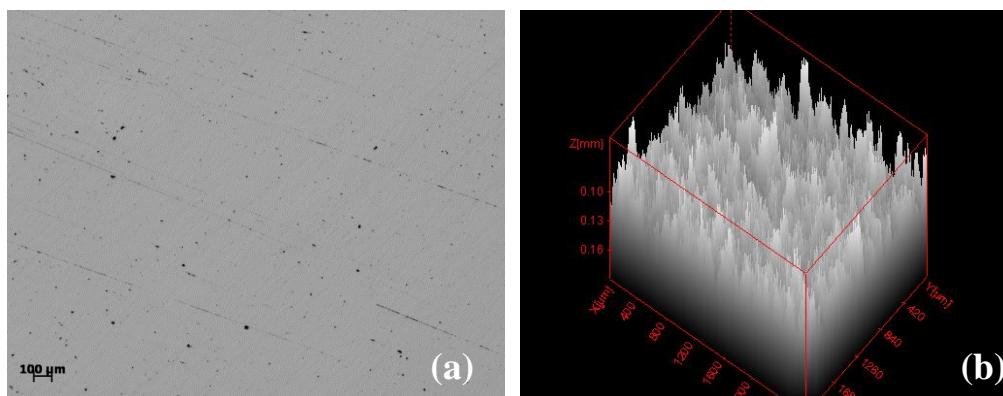


Figura 35 – Aço API X80 polido. (a) Imagem da região do cupom analisada; (b) representação da topografia da superfície analisada.

5.2

Cinética da formação de biofilme em superfícies com características microestruturais diferentes.

Os microrganismos presentes no meio ambiente podem aderir nas superfícies metálicas, iniciando assim o processo de formação de biofilme. A atividade microbiana juntamente com o biofilme formado na superfície de materiais metálicos pode afetar a cinética das reações catódicas e/ou anódicas, podendo acelerar ou inibir o processo de corrosão.

Muitos autores afirmam que as características das superfícies influenciam a adesão microbiana e consequentemente a formação do biofilme. Por esse motivo foi avaliada a adesão microbiana na junta soldada obtida pelo processo SAW e os resultados foram comparados com o metal de base.

5.2.1

Quantificação microbiana

Para avaliar a cinética de formação de biofilme foram realizados três testes onde houve a retirada dos corpos de prova do sistema dinâmico contendo o fluido de processo coletado na Baía de Guanabara em diversos tempos (0h, 24h, 48h, 192h, 354h, 546h e 840h) e estes eram processados para realizar as análises microbiológicas. Houve concomitantemente a retirada do fluido em cada tempo para realizar a quantificação microbiológica das bactérias planctônicas.

Foram quantificados quatro grupos de bactérias: BRS, BANHT, BPF e BFHT. Os resultados obtidos na contagem das bactérias planctônicas estão dispostos na tabela 15.

A quantidade de bactérias presentes inicialmente no fluido de processo foi menor para o grupo das BRS e das BPF, não tendo um valor tão expressivo quando comparado aos outros dois grupos, BANHT e BFHT, uma vez que as BRS e BPF são grupos mais específicos, apesar de serem compostos por diferentes gêneros que possuem características em comum ao passo que as BANHT e BFHT englobam toda e qualquer espécie heterotrófica cultivável,

sendo que a primeira agrega as anaeróbias heterotróficas e a segunda as facultativas heterotróficas.

Observa-se na tabela 15 que ao longo dos ensaios a quantidade de bactérias oscilou aumentando em 24 horas e diminuindo de maneira significativa ao longo dos dias, sendo que ao final dos ensaios houve um leve aumento na quantidade microbiana.

Como foi mencionado no item 4.5, foram realizadas leituras diárias dos kits inoculados com os microrganismos anaeróbios a fim de avaliar a atividade bacteriana. Essa leitura foi feita até detectar crescimento positivo que era identificado pela mudança de cor nos meios de cultura. Com isso observou-se que o grupo das BANHT possuía uma atividade alta, pois foi detectado crescimento positivo em menos de 5 dias, de acordo com a tabela 11. Já o grupo das BRS demorou mais para ter uma mudança na cor do meio de cultura, que caracteriza um crescimento positivo, levando 15 dias para obter uma resposta positiva, indicando que a atividade bacteriana era baixa (de acordo com a tabela 11).

Sabe-se que a quantidade de bactérias presente no fluido é de fundamental importância na determinação da taxa inicial de colonização microbiana na superfície sólida. Segundo Ferris et al⁷⁹ quando as bactérias se aderem ao substrato elas passam a se tornar independentes das que ficam presentes no fluido. Em sistemas dinâmicos o fluido em movimento faz com que as células e o biofilme que estão aderidos nas superfícies sólidas sofram destacamento sendo assim carreados pelo fluxo podendo habitar outro local.⁸⁰

As quantidades apresentadas na tabela representam uma média dos valores obtidos nas triplicatas dos três ensaios.

Tabela 15 – Quantificação das bactérias planctônicas no fluido de processo.

Tempo	Anaeróbias (NMP/mL)		Aeróbias (UFC/mL)	
	BANHT	BRS	BFHT	BPF
Zero	$3,42 \times 10^6$	$7,72 \times 10^3$	$8,05 \times 10^5$	$2,39 \times 10^3$
24 horas	$8,08 \times 10^6$	$2,02 \times 10^2$	$8,94 \times 10^6$	$7,06 \times 10^3$
48 horas	$2,87 \times 10^6$	$3,76 \times 10^2$	$2,86 \times 10^5$	$2,00 \times 10^2$
196 horas	$3,41 \times 10^5$	$2,97 \times 10^1$	$3,86 \times 10^3$	$1,71 \times 10^2$
354 horas	$3,34 \times 10^5$	3,28	$1,10 \times 10^4$	$4,09 \times 10^1$
546 horas	$1,57 \times 10^5$	$3,07 \times 10^{-1}$	$2,07 \times 10^4$	$1,58 \times 10^1$
840 horas	$2,49 \times 10^5$	9,09	$7,06 \times 10^3$	$3,16 \times 10^1$

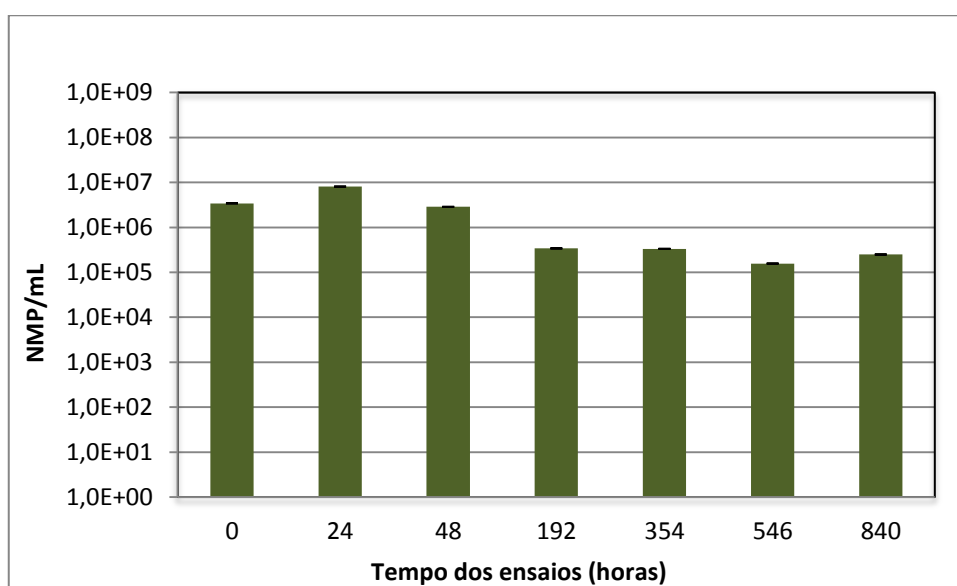


Figura 36 – Quantificação das bactérias anaeróbias planctônicas do grupo das BANHT.

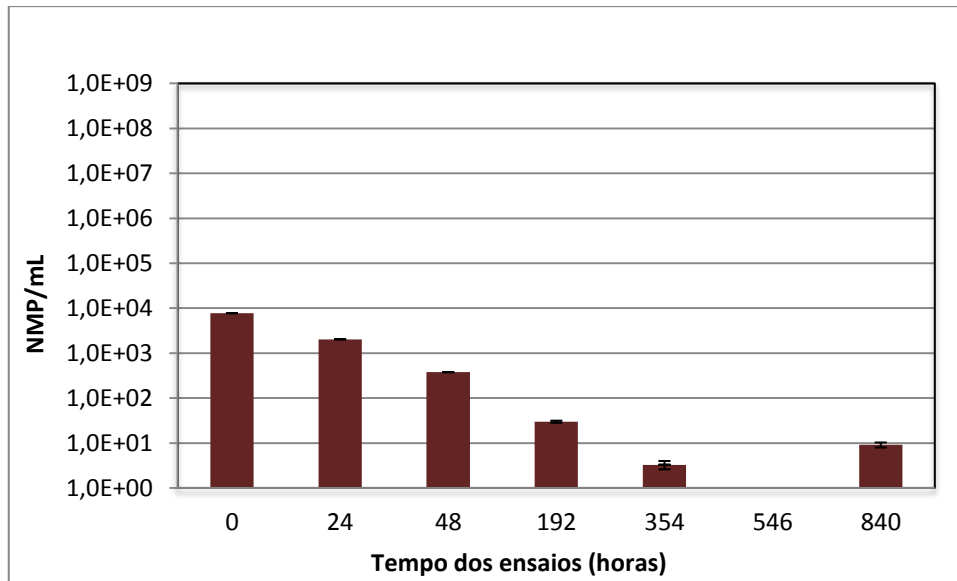


Figura 37 – Quantificação das bactérias anaeróbias planctônicas do grupo das BRS

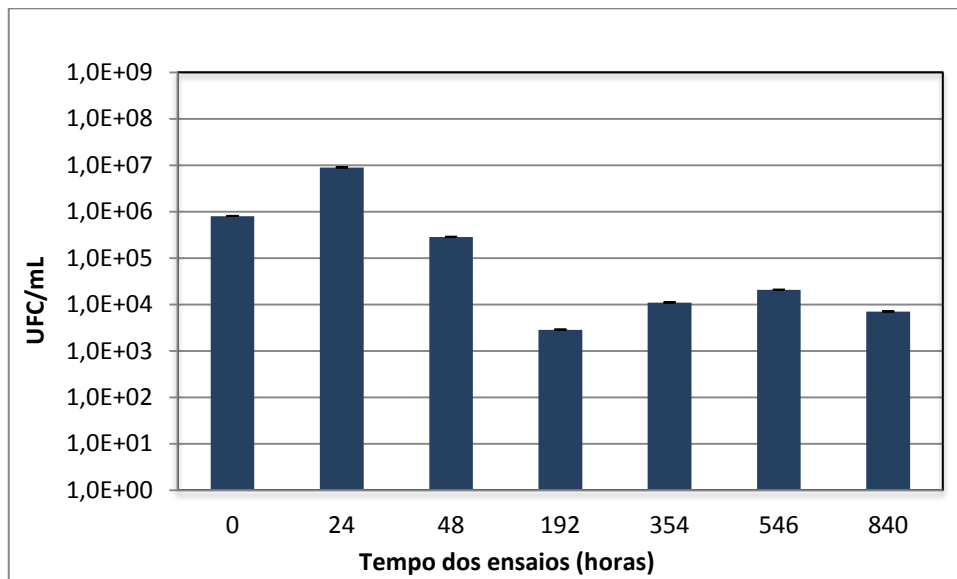


Figura 38 – Quantificação das bactérias aeróbias planctônicas do grupo das BFHT.

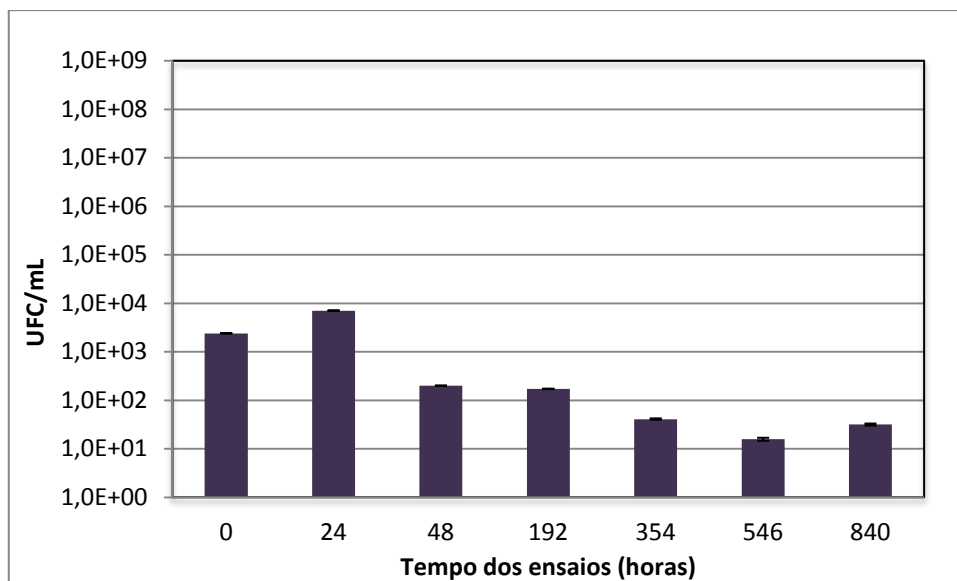


Figura 39 – Quantificação das bactérias aeróbias planctônicas do grupo das BPF.

Para a quantificação dos microrganismos sésseis foram retirados os corpos de prova em seis diferentes tempos a fim de determinar a cinética de formação do biofilme. Na tabela 16 está disposta a quantificação dos grupos bacterianos estudados nas duas superfícies com características microestruturais diferentes, junta soldada e metal de base (aço API X80).

Tabela 16 – Quantificação das bactérias sésseis nos corpos de prova.

Tempo	Junta soldada				Metal de base			
	Anaeróbias		Aeróbias		Anaeróbias		Aeróbias	
	BANHT	BRS	BFHT	BPF	BANHT	BRS	BFHT	BPF
24 horas	$1,47 \times 10^8$	$8,94 \times 10^3$	$1,05 \times 10^7$	$1,94 \times 10^5$	$1,27 \times 10^8$	$1,05 \times 10^4$	$3,92 \times 10^7$	$1,95 \times 10^5$
48 horas	$5,46 \times 10^7$	$4,77 \times 10^3$	$1,13 \times 10^7$	$1,56 \times 10^4$	$1,06 \times 10^8$	$1,46 \times 10^4$	$1,11 \times 10^7$	$5,63 \times 10^4$
192 horas	$6,34 \times 10^7$	$5,98 \times 10^3$	$3,00 \times 10^6$	$1,09 \times 10^4$	$5,93 \times 10^7$	$2,08 \times 10^4$	$1,50 \times 10^6$	$8,96 \times 10^3$
354 horas	$4,19 \times 10^7$	$2,09 \times 10^4$	$3,83 \times 10^6$	$2,77 \times 10^3$	$2,52 \times 10^7$	$1,06 \times 10^3$	$1,12 \times 10^7$	$1,34 \times 10^3$
546 horas	$2,30 \times 10^7$	$7,62 \times 10^2$	$1,28 \times 10^6$	$3,04 \times 10^3$	$5,26 \times 10^6$	$3,79 \times 10^3$	$7,86 \times 10^5$	$1,32 \times 10^3$
840 horas	$1,75 \times 10^7$	$1,97 \times 10^4$	$1,40 \times 10^6$	$1,80 \times 10^3$	$5,09 \times 10^7$	$5,22 \times 10^4$	$1,11 \times 10^6$	$1,87 \times 10^3$

Os resultados mostram que não houve uma significativa diferença entre a quantidade de bactérias na junta soldada e no metal de base, porém o metal de base obteve uma adesão microbiana levemente maior. De acordo com a tabela 16 24 horas após o início dos testes a quantidade de colônias dos microrganismos precipitantes de ferro (BPF) nas duas superfícies é praticamente igual, mas a quantidade de colônias do grupo das BFHT possui uma leve diferença entre os substratos, sendo maior para o metal de base apesar de estarem na mesma ordem de grandeza. Já para os grupos das anaeróbias, as bactérias heterotróficas (BANHT) possuem quantidades de células praticamente iguais para as duas superfícies com valores na mesma ordem de grandeza (1,47 para a junta soldada e 1,27 para o metal de base), ao passo que para o grupo das BRS a quantidade de células é um pouco maior para o metal de base, sendo a diferença entre os dois substratos igual a $1,56 \times 10^3$.

Após 48 horas de ensaio o número de bactérias é maior no metal de base do que na junta soldada, menos para as BFHT que tiveram quantidades praticamente iguais para as duas superfícies de acordo com a tabela 16. Esses perfis vão se alternando ao longo dos ensaios, mas não há uma variação expressiva do número de microrganismos dos diferentes grupos estudados para as duas superfícies analisadas.

A quantidade de bactérias pertencentes ao grupo das BRS, que é apontado como principal responsável pela CIM em superfícies ferrosas, foi levemente maior nos corpos de prova do metal de base ao longo de todo o ensaio de acordo com o gráfico na figura 41, isto é, em quase todos os tempos em que os cupons foram retirados houve um crescimento bacteriano maior nos corpos de prova confeccionados com o metal de base, exceto no tempo de 354 horas, onde a quantidade de BRS foi maior na superfície da junta soldada.

A partir da quantificação microbiana observa-se que apesar da junta soldada possuir características microestruturais diferentes do metal de base que poderiam favorecer uma adesão diferenciada isso não foi comprovado nos ensaios. Segundo Flint et al⁸¹ a superfície da junta soldada mostrou não ter um impacto significativo na adesão microbiana. No entanto apenas os dados quantitativos não são suficientes para afirmar que não houve uma adesão diferenciada, tendo em vista que a quantidade de microrganismos cultiváveis em meios de cultura é muito menor que o total de microrganismos presentes tanto no fluido quanto os aderidos.

A velocidade de escoamento tem um papel importante no processo de formação de biofilme. Feron sugeriu em seu estudo que a velocidade de escoamento pode influenciar de forma considerável o processo de formação de biofilmes em superfícies sólidas.⁸² Segundo ele quando o fluido possui velocidades baixas propicia a adesão microbiana, contudo limita a taxa de crescimento por causa da reduzida transferência de massa que ocorre entre o fluido e a superfície, pois carregam baixas quantidades de nutrientes. Seu estudo obteve crescimento microbiano reduzido em velocidade de 0,22 m/s.⁸²

A velocidade de escoamento do fluido no presente trabalho, no valor de 0,02m/s, provavelmente pode ter afetado a atividade do biofilme. No entanto sabe-se que em regimes laminares e de transição o biofilme formado é mais espesso e se destaca com mais facilidade, não sendo muito estável. O fato de não haver uma variação significativa quantidade microbiana foi provavelmente devido ao fenômeno de destacamento, visto que o biofilme não é muito estável nessa condição teste. Esta condição foi comprovada com as análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) que fornece imagens da superfície metálica que será apresentada no subitem 5.2.3.

De acordo com Shams El Din et al⁴⁶ a influência da velocidade do fluido na formação do biofilme ainda não está bem definida, pois de acordo com o autor Mollica, A., que é autoridade nesse assunto, afirma que o biofilme não se forma em velocidades de escoamento maiores do que 2 m/s, mas alguns autores reportaram que velocidades maiores de 4,5 m/s não diminuiram a atividade do biofilme.

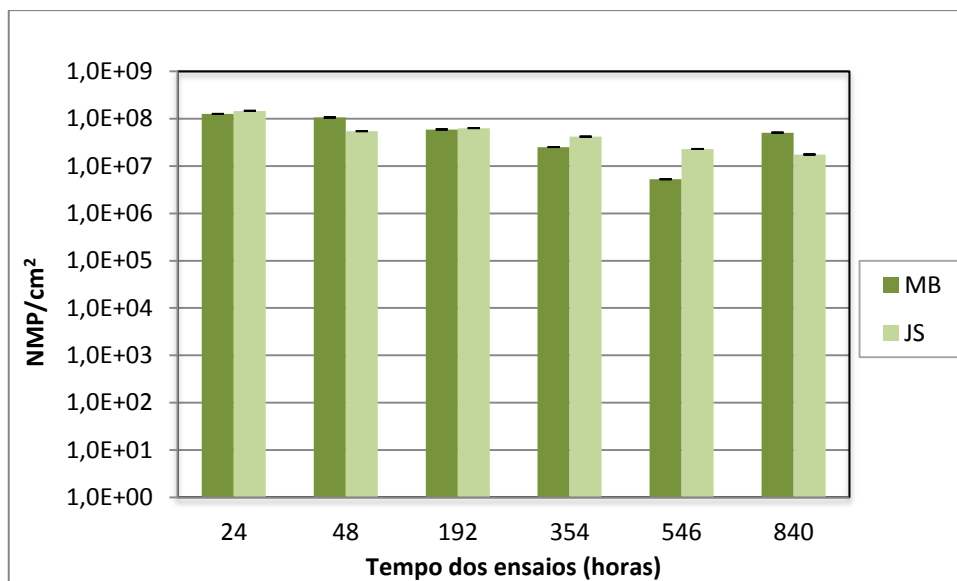


Figura 40 – Quantificação do grupo das BANHT sésseis nos corpos de prova do metal de base (MB) e da junta soldada (JS).

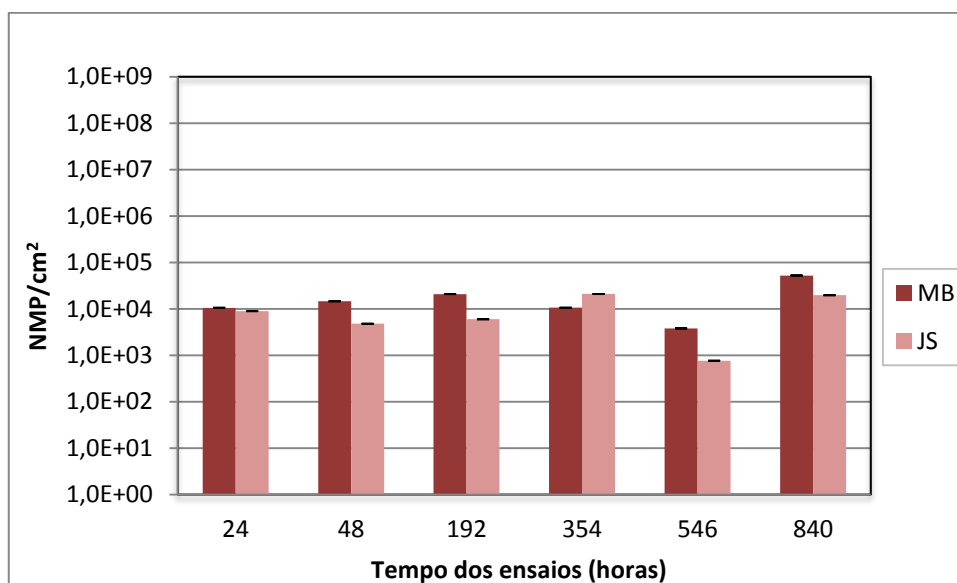


Figura 41 – Quantificação do grupo das BRS sésseis nos corpos de prova do metal de base (MB) e da junta soldada (JS).

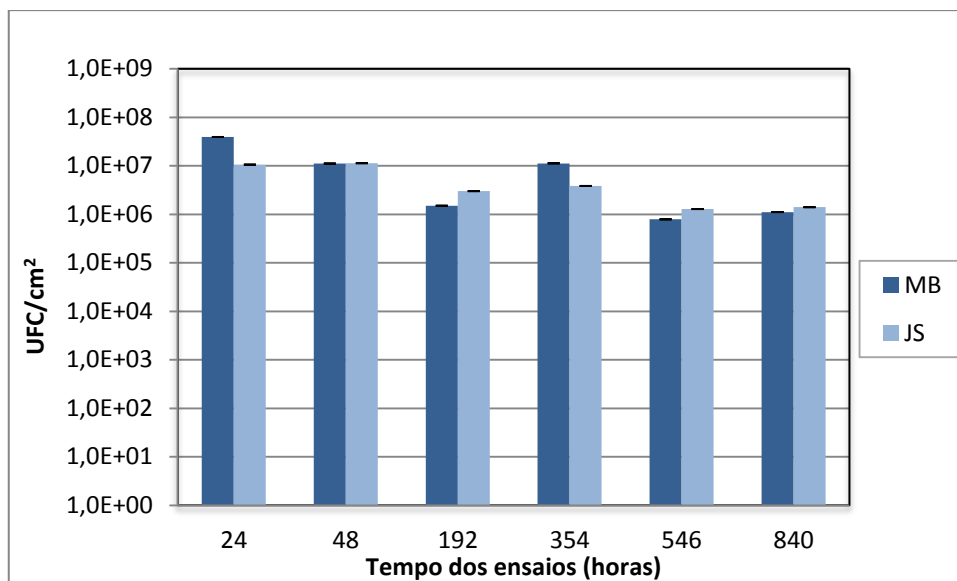


Figura 42 – Quantificação do grupo das BFHT sésseis nos corpos de prova do metal de base (MB) e da junta soldada (JS).

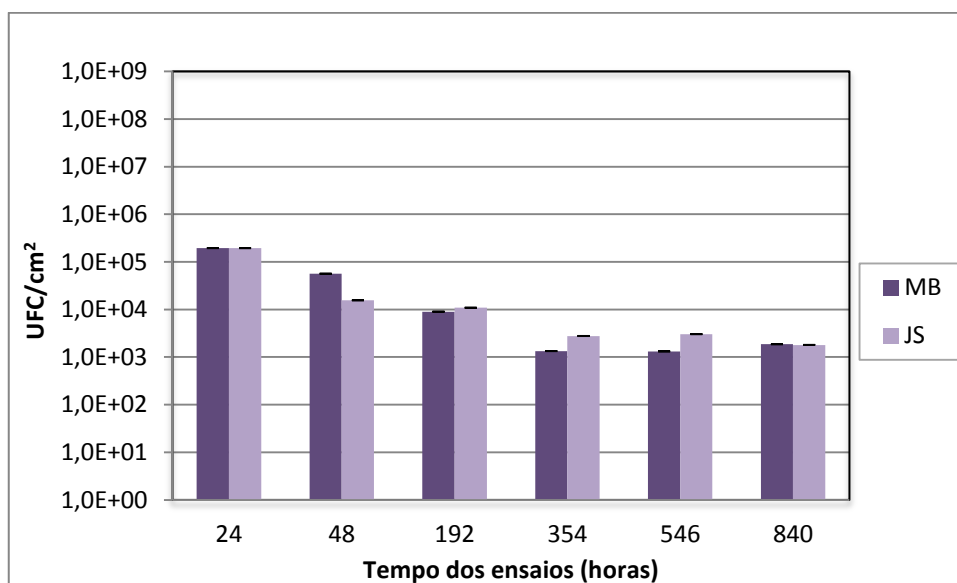


Figura 43 – Quantificação do grupo das BPF sésseis nos corpos de prova do metal de base (MB) e da junta soldada (JS).

5.2.2

Análises químicas por cromatografia de íons

Durante o andamento dos ensaios foram retiradas alíquotas, nos mesmos tempos em que eram retirados os corpos de prova, para avaliar a quantidade de nutrientes disponíveis e bioatividade das reações bacterianas. Essas análises foram feitas pela dosagem de sulfato e ácidos orgânicos por cromatografia de íons.

Observou-se que o fluido utilizado possuía baixas concentrações de ânions orgânicos e não puderam ser detectados, pois suas quantidades estavam abaixo do limite de detecção do aparelho tanto no fluido antes de iniciar os testes quanto durante os ensaios. Já em relação ao íon sulfato o fluido coletado possuía inicialmente em média 1817,9 mg/L (tabela 17).

Observa-se no gráfico na figura 44 que ao final do ensaio houve uma pequena queda na concentração do íon sulfato, tendo uma redução no fluido de apenas 8,7%. A baixa redução da quantidade desse íon pode estar atrelada ao fato de ter havido a reposição do fluido a cada retirada dos corpos de prova nos tempos determinados. Por esse motivo não é possível avaliar a cinética de conversão do íon sulfato com os dados obtidos.

A pouca redução na concentração do sulfato no fluido pode também estar atrelada a baixa quantidade de bactérias redutoras de sulfato (BRS) no meio também pela sua cinética de crescimento mais lenta, como foi citada no subitem 5.2.1.

O teor de sulfato presente no meio não teve grande variação ao longo dos ensaios e outra possível explicação poderia ser a presença de bactérias oxidantes de sulfeto no fluido. Esses microrganismos são aeróbios que oxidam o sulfeto a sulfato e pelo fato de ter uma concentração de oxigênio propícia para o seu desenvolvimento, elas poderiam ter crescido neste meio produzindo sulfato no fluido. No entanto esse grupo de bactérias não pode ser quantificado nem identificado e por esse motivo não se pôde confirmar a sua presença.

Tabela 17 – Análises químicas de cromatografia realizadas no fluido de processo.

Tempo de ensaio	Sulfato (mg/L)	Lactato (mg/L)	Acetato (mg/L)	Formiato (mg/L)
Zero	1817,9	< 0,1	< 0,1	< 0,1
24 horas	1969,8	< 0,1	< 0,1	< 0,1
48 horas	2062,5	< 0,1	< 0,1	< 0,1
8 dias	2011,5	< 0,1	< 0,1	< 0,1
15 dias	1945,6	< 0,1	< 0,1	< 0,1
22 dias	1801,3	< 0,1	< 0,1	< 0,1
35 dias	1659,4	< 0,1	< 0,1	< 0,1

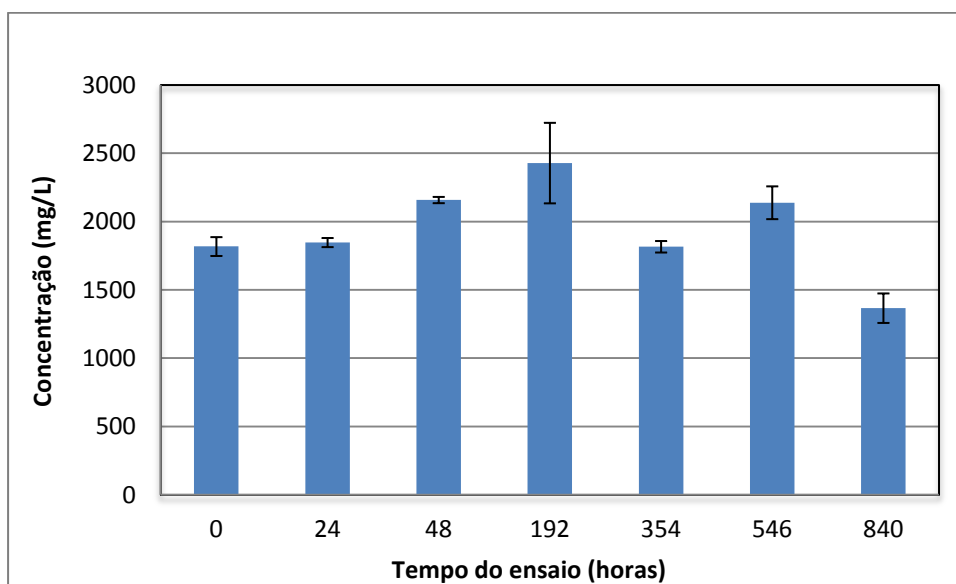


Figura 44 – Análise química do sulfato realizada no fluido de processo ao longo do tempo.

5.2.3

Análise de biofilmes por MEV e EDS

Os cupons testes foram analisados por MEV e EDS antes de serem submetidos aos ensaios a fim de caracterizar morfologicamente e quimicamente a superfícies dos metais. Sabe-se que a microscopia eletrônica (MEV) é uma técnica importante na visualização da superfície dos materiais sendo capaz de produzir imagens de alta resolução da topografia do substrato.

Na figura 45 estão dispostas as imagens obtidas por MEV dos corpos de prova antes dos ensaios. E nas figuras 46 e 47 estão os resultados do EDS realizados no metal de base e na junta soldada, respectivamente.

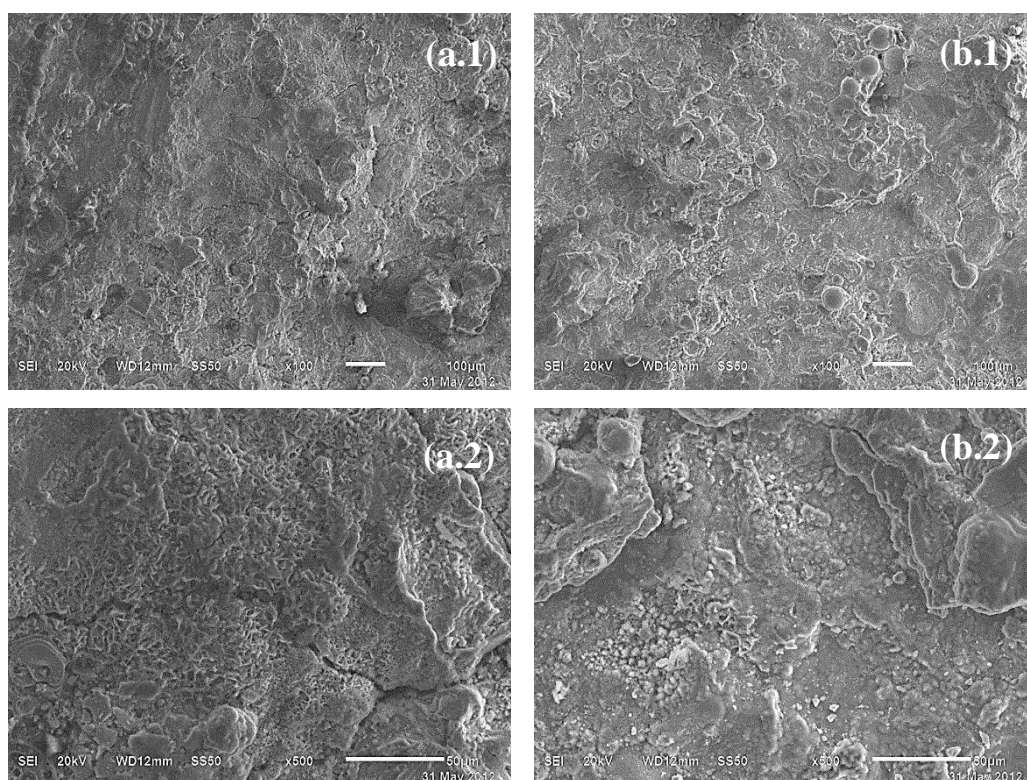


Figura 45 – Imagens dos corpos de prova antes do ensaio. (a) Junta soldada. (b) Metal de base. (1) Aumento de 100x, (2) Aumento de 500x.

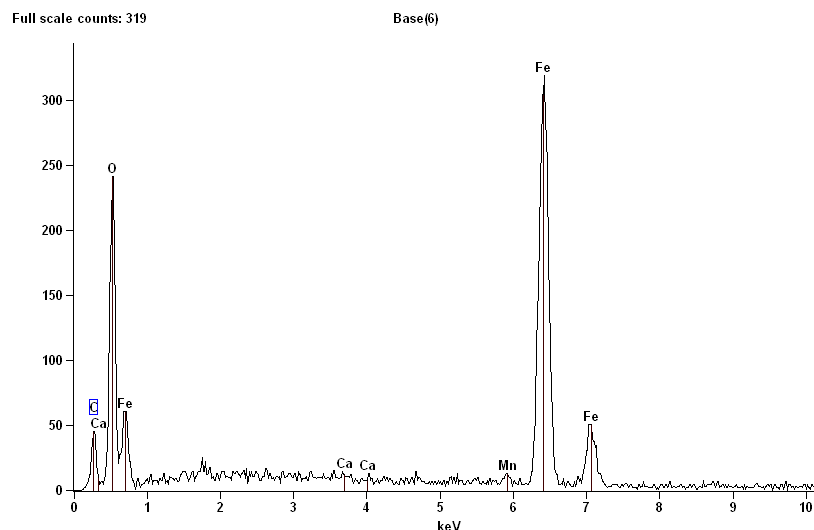


Figura 46 – Análise de EDS realizada no corpo de prova do metal de base antes da exposição ao fluido.

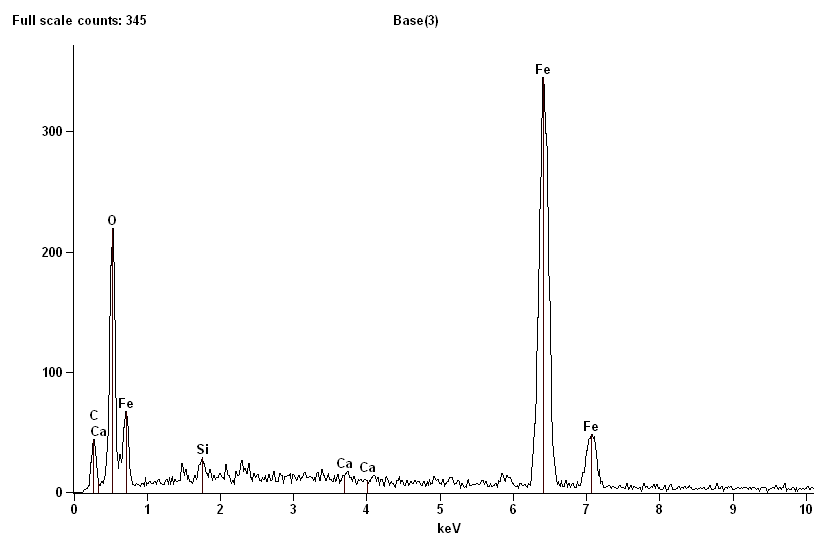


Figura 47 – Análise de EDS realizada no corpo de prova da junta soldada antes da exposição ao fluido.

Os corpos de prova retirados nos seis diferentes tempos foram analisados por MEV e as imagens apresentadas nas figuras de 48 a 53 confirmam que houve adesão bacteriana, formação de biofilme e crescimento microbiano para os cupons do metal de base e da junta soldada, como já fora confirmado com a quantificação microbiológica.

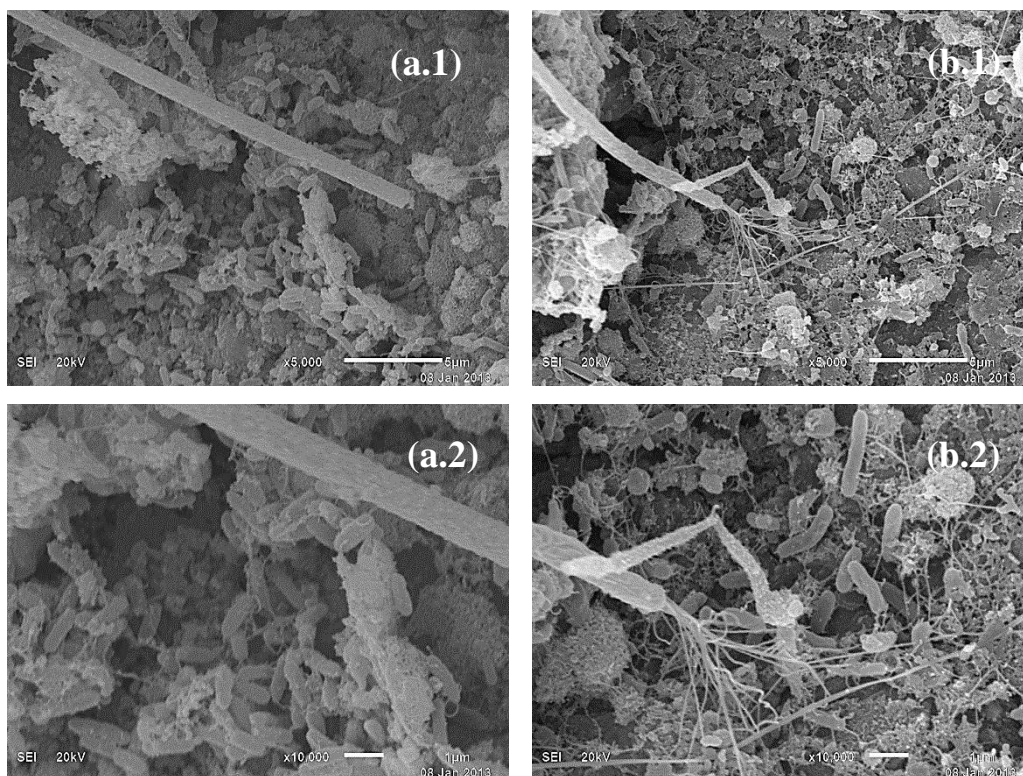


Figura 48 – Imagens dos corpos de prova após 24 horas de exposição. (a) Junta soldada. (b) Metal de base. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.

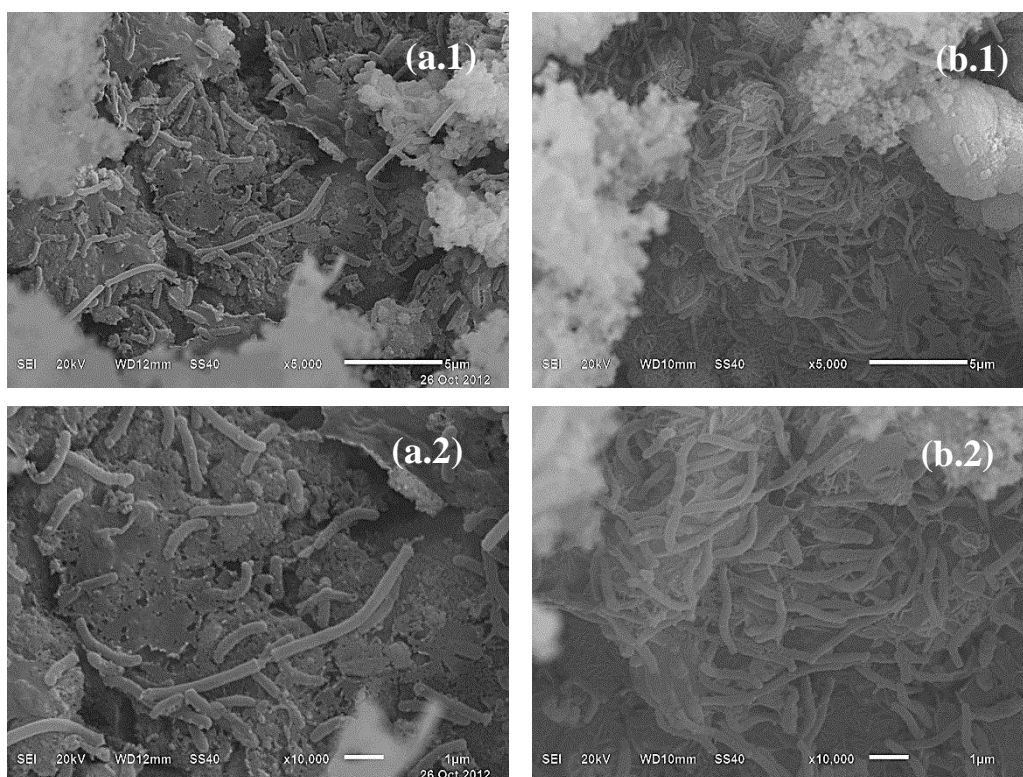


Figura 49 – Imagens dos corpos de prova após 48 horas de exposição. (a) Junta soldada. (b) Metal de base. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.

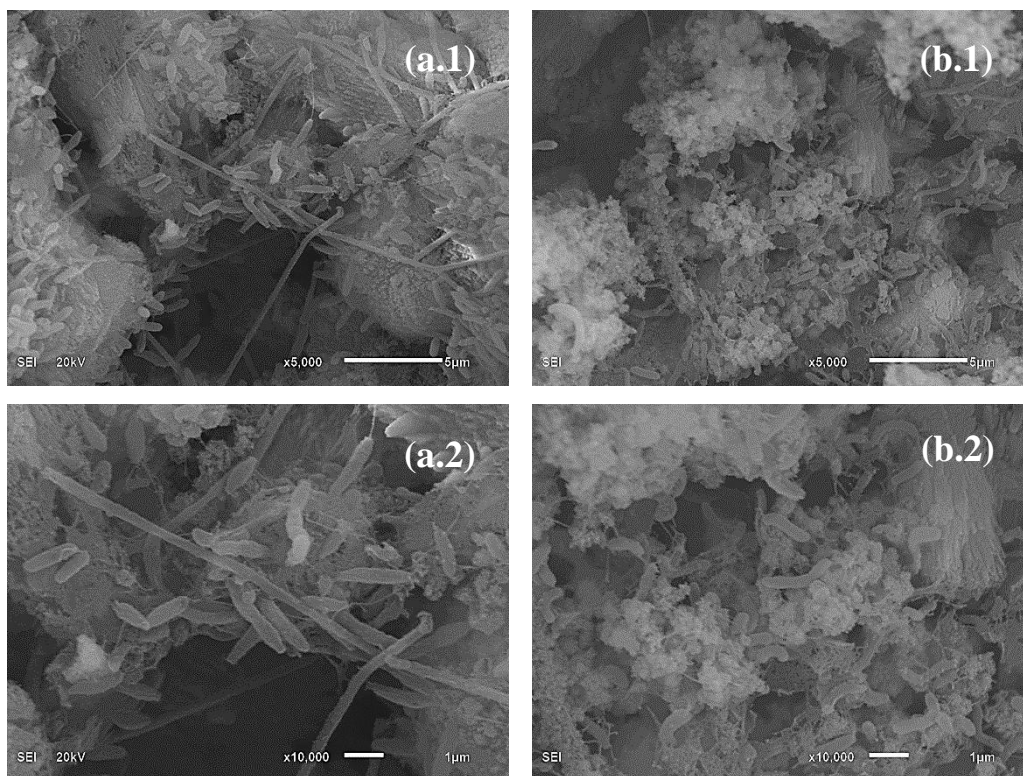


Figura 50 – Imagens dos corpos de prova após 192 horas (8 dias) de exposição. (a) Junta soldada. (b) Metal de base. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.

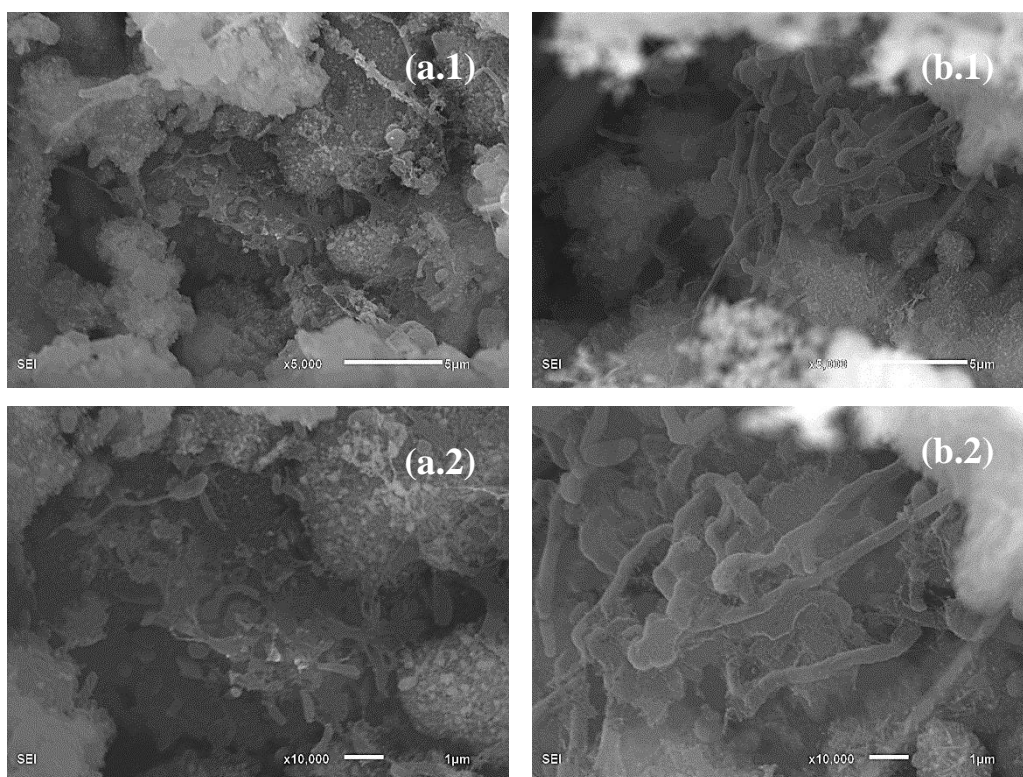


Figura 51 – Imagens dos corpos de prova após 354 horas de exposição. (a) Junta soldada. (b) Metal de base. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.

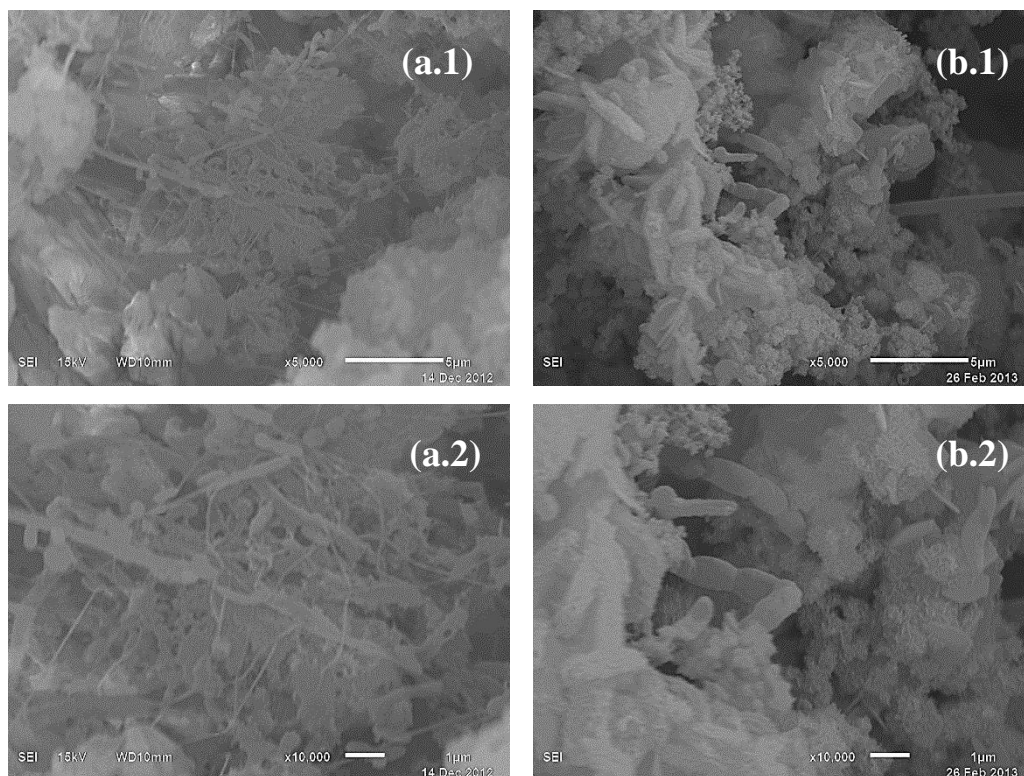


Figura 52 – Imagens dos corpos de prova após 546 horas de exposição. (a) Junta soldada. (b) Metal de base. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.

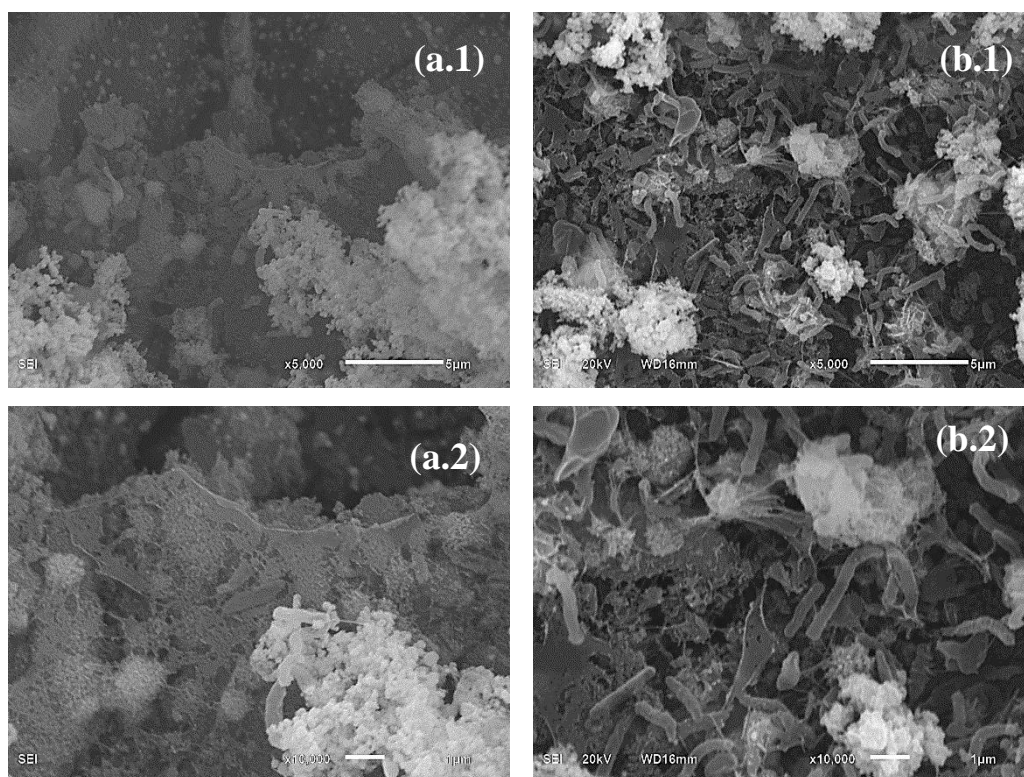


Figura 53 – Imagens dos corpos de prova após 840 horas (35 dias) de exposição. (a) Junta soldada. (b) Metal de base. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.

Observando as imagens da figura 48 constata-se que com apenas 24 horas de exposição ao fluido de processo já houve um bom desenvolvimento de biofilme com características não uniformes e com uma quantidade significativa de matriz polimérica (EPS em inglês). Os biofilmes estavam dispersos nos corpos de prova ocupando algumas áreas do substrato que estava exposto ao fluido de processo confirmando assim a irregularidade e a heterogeneidade da formação de biofilme em superfícies sólidas.

Analizando as imagens de MEV obtidas das superfícies analisadas expostas ao fluido de processo por 24 horas (figura 48) constata-se que houve uma adesão microbiana maior na superfície da junta soldada quando comparada com o metal de base que pode ser identificada pela maior densidade de microrganismos dispostos na superfície desse material (junta soldada).

Ao longo do tempo do ensaio constata-se que há um progressivo aumento do biofilme formado e de matriz polimérica. Nota-se que em 48 horas (figura 49) já houve um aumento significativo de bactérias aderidas na superfície do metal de base, com uma densidade microbiana muito maior do que teve com 24 horas (figura 48b). Já em relação à junta soldada houve um decréscimo da quantidade de microrganismos aderidos em comparação ao obtido com apenas 24 horas de exposição. Deve ter ocorrido o destacamento desse biofilme aderido na junta soldada uma vez que o biofilme formado em regime laminar é instável e facilmente destacável.

Observa-se que em ambos os substratos analisados após 48 horas (figura 49) de exposição há microrganismos em forma de vibrião que é a forma característica do grupo das BRS, sendo que a superfície do metal de base apresenta maior densidade microbiana e concentração de material polimérico quando comparado com a junta soldada.

Analizando as imagens obtidas após 192 horas de exposição (8 dias) que estão dispostas na figura 50 mostram um perfil oposto ao obtido após 48 horas de exposição (figura 49). Houve um aumento a densidade microbiana aderida à superfície da junta soldada e um decréscimo no metal de base quando comparado aos resultados obtidos com 48 horas. Provavelmente deve ter ocorrido o destacamento do biofilme no metal de base. Comparando as duas superfícies nesse tempo (192 horas) nota-se que a junta soldada possui um biofilme mais denso do que o metal de base, com uma quantidade de microrganismos maior.

Após 354 horas de exposição ao fluido (figura 51) o metal de base possui uma densidade microbiana maior do que na superfície da junta soldada, no entanto algumas células sofreram alterações morfológicas, deformaram-se, o que pode indicar escassez de nutrientes disponíveis no ambiente. Já em 546 horas esse perfil se altera, no entanto as alterações na morfologia das bactérias se mantêm como pode ser observado na figura 52.

Ao final do ensaio, 840 horas (35 dias), observa-se a formação de um biofilme que provavelmente sofreu o processo de destacamento, pois parece possuir menos microrganismos aderidos às duas superfícies analisadas (junta soldada e metal de base) quando comparado com os outros dias. Notou-se também uma alteração nas características morfológicas dos microrganismos aderidos ao longo do tempo que pode ser explicada pela diminuição da disponibilidade de nutrientes no biofilme que não foram repostos no fluido (figura 53).

As irregularidades do biofilme acontecem porque a matriz polimérica possui um volume entre 75% a 95% enquanto os microrganismos possuem um volume entre 5% a 25% do biofilme o que causa a formação de agregados fazendo com que as bactérias se concentrem nas regiões superiores ou inferiores do biofilme.⁸³ de acordo com os autores Yuan e Pehkonen⁸⁴ a heterogeneidade e a irregularidade dos biofilmes acabam sendo importantes fatores para o início do processo de corrosão localizada por pite, pois ocasionam diferenças locais de pH, oxigênio dissolvido ou metabólitos que podem promover células de corrosão eletroquímicas ativas.

Segundo alguns autores, os microrganismos que vivem em ambientes aquáticos se aderem na superfície do substrato através de uma complexa interação entre três componentes: as bactérias, a superfície sólida e o fluido. Sabe-se que há fatores biológicos que podem influenciar a adesão microbiana em uma superfície, tais como, mobilidade e tamanho da célula, grau de hidrofobicidade, as substâncias poliméricas extracelulares (EPS), carga eletrostática da superfície sólida, estado fisiológico das bactérias, entre outros.^{85, 86, 87, 88, 89}

Após a adesão microbiana forma-se o biofilme na superfície do substrato que possui como função ser uma estratégia de sobrevivência além de proporcionar um posicionamento favorável aos nutrientes disponíveis no meio.⁷⁰

Em ambientes onde há escassez de nutrientes as bactérias, em resposta à falta de nutrientes, alteram as suas superfícies e seus padrões de síntese de

polissacarídeos e acabam sintetizando pouco EPS para não gastar os recursos nutricionais, que já são escassos, produzindo assim biofilmes com pouca matriz polimérica.^{23, 90}

A análise de EDS foi realizada em cada superfície analisada pelo MEV e observou-se que os resultados obtidos para ambos os materiais nos diferentes tempos foram semelhantes, mostrando que no biofilme formado havia a presença de enxofre (figura 54).

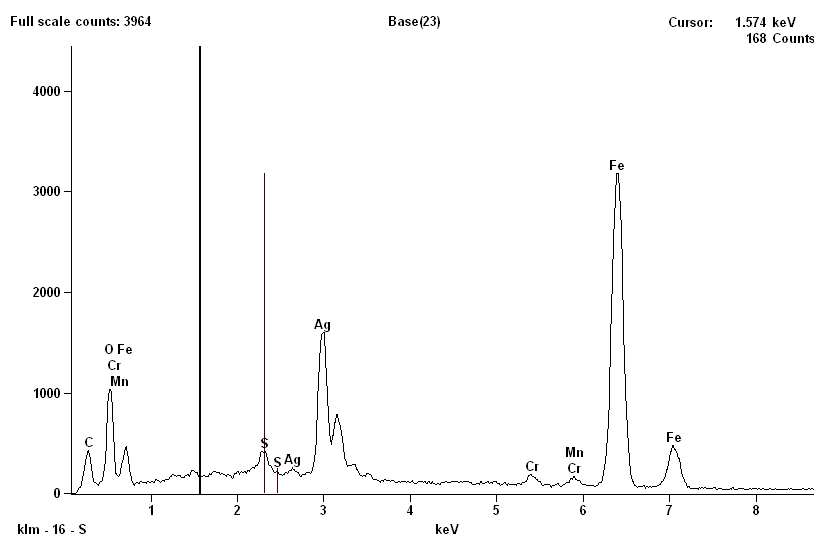


Figura 54 – Análise de EDS do biofilme formado no corpo de prova da junta soldada após 840 horas (35 dias) de exposição.

5.2.4

Análise da taxa de corrosão localizada por pites

Os corpos de prova que foram utilizados na quantificação microbiana foram analisados no microscópio óptico para análise da densidade de pites e da taxa de corrosão ao final de cada experimento. As avaliações da corrosão localizada foram realizadas por microscopia óptica com um aumento de 100 vezes (10x da lente condensadora e 10x da lente objetiva) e os resultados da densidade de pites e da média da taxa de corrosão ao final dos experimentos estão dispostos nas tabelas 18 e 19, respectivamente.

Analizando a figura 55 pode-se observar o aumento gradativo da densidade de pites ao longo do tempo de exposição ao fluido de processo. A partir desse

dado pode-se fazer uma relação entre o desenvolvimento microbiano e a densidade de pites ao compará-lo com os resultados obtidos na quantificação microbiana e na análise por microscopia.

Observa-se que o corpo de prova da junta soldada possui em 24 horas uma densidade de pites um pouco maior do que o metal de base que confirma o resultado obtido pela análise de microscopia (figura 48). No entanto esse perfil se alterna em 48 horas após a exposição ao fluido de processo, como pode ser visto no gráfico na figura 55, onde a superfície do metal de base possui uma densidade de pites maior do que a junta soldada o que corrobora os resultados obtidos na quantificação microbiana das BRS (figura 41), BANHT (figura 40) e BPF (figura 43) e na análise de MEV. Ao longo do tempo dos ensaios esse perfil de densidade de pites vai se alternado assim como os perfis da quantidade microbiana e da análise por microscopia. Ao final do ensaio, 840 horas (35 dias), nota-se que houve uma redução de aproximadamente 41% da densidade de pites da junta soldada em relação ao metal de base. Esse fato comprova os dados obtidos na quantificação microbiana e na análise por microscopia evidenciando que há uma relação entre o desenvolvimento e a densidade de pites.

Tabela 18 – Densidade de pites nos corpos de prova da junta soldada e do metal de base durante a cinética de formação de biofilmes.

Tempo	Densidade de pites nos cupons (pites/m ²)	
	Junta soldada	Metal de base
24 horas	4,92 x 10 ⁶	2,95 x 10 ⁶
48 horas	3,93 x 10 ⁶	5,09 x 10 ⁶
192 horas	6,26 x 10 ⁶	3,93 x 10 ⁶
354 horas	1,64 x 10 ⁷	1,26 x 10 ⁷
546 horas	1,57 x 10 ⁷	2,01 x 10 ⁷
840 horas	1,37 x 10 ⁷	2,33 x 10 ⁷

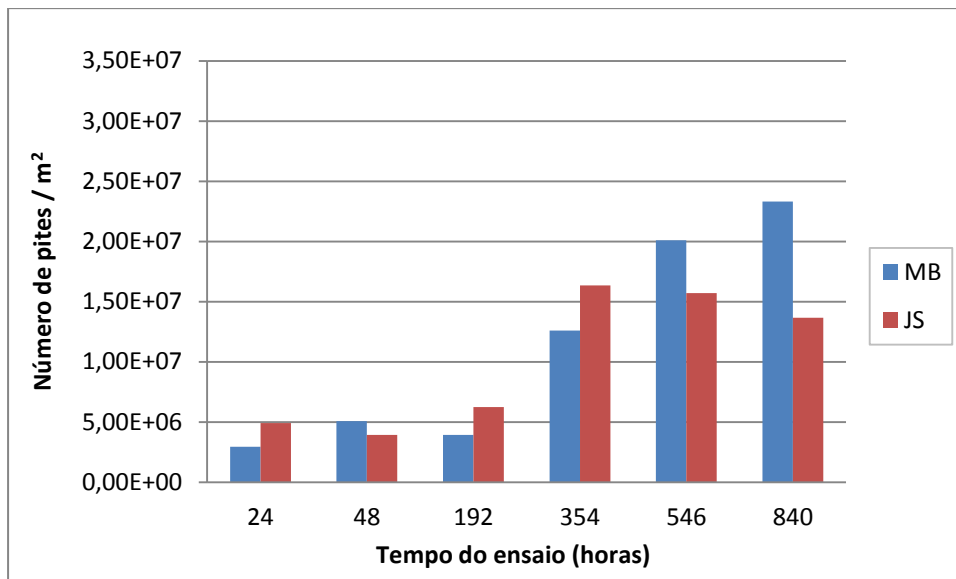


Figura 55 – Densidade de pites nos corpos de prova da junta soldada (JS) e do metal de base (MB) ao longo dos ensaios.

A taxa de corrosão localizada por pites foi calculada de acordo com a norma da associação nacional dos engenheiros de corrosão (NACE em inglês) dos E.U.A RP 0775-99 de acordo com a seguinte relação:¹⁴

$$\text{Taxa de pites [mm/ano]} = \frac{365 \times \text{pite mais profundo [mm]}}{\text{tempo de exposição [dias]}}$$

Analizando a tabela 19 observa-se que há diferenças entre a profundidade dos pites e a taxa de corrosão localizada ao final dos ensaios, onde o metal de base possui um pite aproximadamente 1,5 vezes mais profundo e uma taxa de corrosão por pites em média 36% maior do que a junta soldada.

Devido ao pouco tempo de exposição não é esperada uma perda de massa significativa, assim sendo neste caso não foi calculada a taxa de corrosão localizada.

Analizando os resultados obtidos da densidade de pites e da taxa de corrosão localizada observa-se que a superfície da junta soldada (metal de base, metal de solda e ZTA) é mais resistente à corrosão microbiana quando comparada ao metal de base.

Tabela 19 – Avaliação da taxa de corrosão localizada por pites nos corpos de prova da junta soldada e do metal de base.

Tempo	Maior profundidade (mm)		Taxa de pites (mm/a)	
	Junta Soldada	Metal de base	Junta Soldada	Metal de base
24 horas	$1,09 \times 10^{-1}$	$1,36 \times 10^{-1}$	$3,97 \times 10^1$	$4,96 \times 10^1$
48 horas	$1,10 \times 10^{-1}$	$1,01 \times 10^{-1}$	$2,00 \times 10^1$	$1,85 \times 10^1$
192 horas	$1,32 \times 10^{-1}$	$1,05 \times 10^{-1}$	6,02	4,81
354 horas	$1,24 \times 10^{-1}$	$1,47 \times 10^{-1}$	3,02	3,58
546 horas	$1,26 \times 10^{-1}$	$1,97 \times 10^{-1}$	2,10	3,27
840 horas	$8,38 \times 10^{-2}$	$1,28 \times 10^{-1}$	0,87	1,33

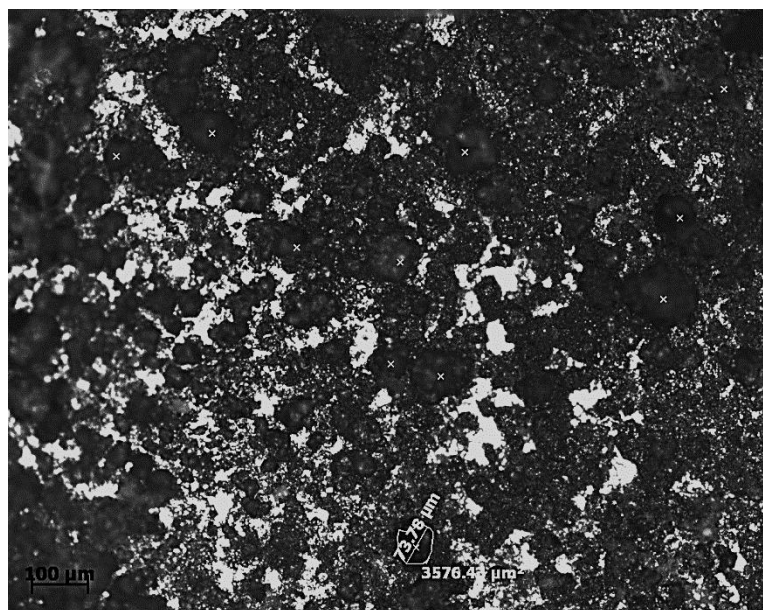


Figura 56 – Imagem de microscopia óptica da superfície da junta soldada após 840 horas de exposição para a contagem de pites.

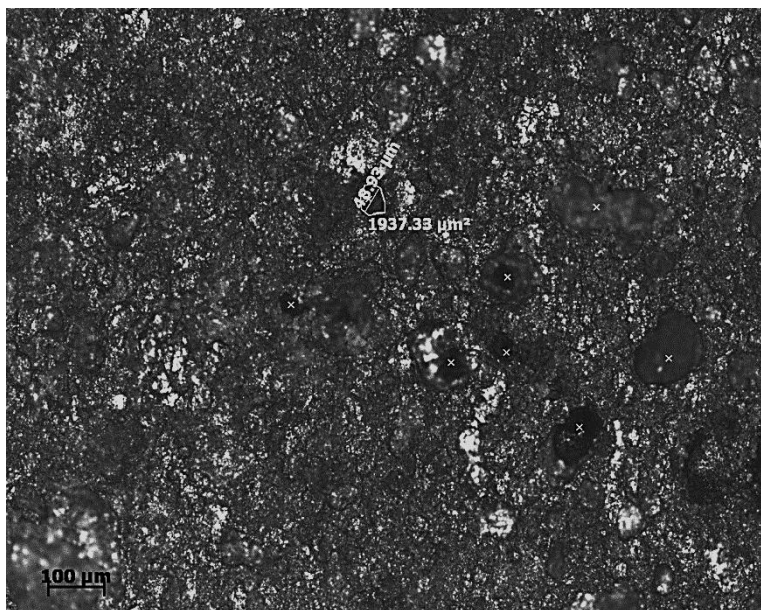


Figura 57 – Imagem de microscopia óptica da superfície do metal de base após 840 horas de exposição para a contagem de pites.

5.3

Cinética da formação de biofilme em superfícies com diferentes graus de rugosidade

A adesão microbiana em uma superfície é um dos primeiros passos para o desenvolvimento do biofilme e acredita-se ser influenciada por inúmeros fatores, sendo que as características superficiais são importantes para o crescimento do biofilme.⁸¹ Muitos autores já relataram que há uma possível relação entre a adesão de bactérias e o aumento da rugosidade superficial, enquanto outros afirmam que não há relação da rugosidade superficial com a adesão microbiana.⁹¹ Por esse motivo foi avaliado a adesão microbiana em um aço da classe API com dois tipos de rugosidade: aço com a rugosidade original e aço polido com pasta de diamante de granulometria de 6 μm .

5.3.1 Quantificação microbiana

Para avaliar a cinética de formação de biofilme foram realizados três testes onde houve a retirada dos corpos de prova do sistema dinâmico contendo o fluido de processo coletado na Baía de Guanabara em diferentes tempos e estes eram processados para realizar as análises microbiológicas.

Na tabela 20 estão dispostos os resultados da quantificação bacteriana. Analisando as figuras 58 a 61 observou-se que não houve uma significativa diferença entre a quantidade de bactérias no aço da classe API polido e o aço com a rugosidade original, porém o aço com maior rugosidade obteve uma adesão microbiana levemente maior para os grupos de microrganismos anaeróbios (BANHT e BRS) de acordo com os gráficos obtidos. A explicação para esse fato pode estar relacionada a localização destes grupos microbianos nos biofilmes formados. Por serem anaeróbias, essas bactérias localizam-se na base do biofilme, nas regiões mais próximas ao substrato metálico, sendo assim, estão menos suscetíveis aos fenômenos de arraste. Quanto mais rugosa for a superfície, maior será a fixação destes grupos microbianos que possuem maior interação com o metal quando comparados com os microrganismos aeróbios e facultativos que se localizam nas regiões mais externas do biofilme.

A partir dos dados obtidos observa-se que a topografia da superfície afetou levemente a taxa de adesão microbiana. Esse ligeiro aumento na adesão bacteriana em função do aumento da rugosidade pode estar associado à proteção das células contra forças de cisalhamento, pois a rugosidade da superfície pode fazer com que as células bacterianas fiquem imobilizadas favorecendo assim uma adesão diferenciada.

Tabela 20 – Quantificação das bactérias sésseis nos corpos de prova.

Tempo	Aço API X80 polido				Aço API X80			
	Anaeróbias		Aeróbias		Anaeróbias		Aeróbias	
	BANHT	BRS	BFHT	BPF	BANHT	BRS	BFHT	BPF
24 horas	$1,27 \times 10^8$	$1,91 \times 10^4$	$5,04 \times 10^7$	$1,26 \times 10^5$	$1,27 \times 10^8$	$1,05 \times 10^4$	$3,92 \times 10^7$	$1,95 \times 10^5$
48 horas	$3,09 \times 10^7$	$2,07 \times 10^4$	$1,06 \times 10^7$	$2,77 \times 10^4$	$1,06 \times 10^8$	$1,46 \times 10^4$	$1,11 \times 10^7$	$5,63 \times 10^4$
192 horas	$3,58 \times 10^7$	$1,61 \times 10^4$	$3,36 \times 10^5$	$1,35 \times 10^4$	$5,93 \times 10^7$	$2,08 \times 10^4$	$1,50 \times 10^6$	$8,96 \times 10^3$
354 horas	$2,05 \times 10^7$	$1,09 \times 10^4$	$1,38 \times 10^6$	$1,67 \times 10^3$	$2,52 \times 10^7$	$1,06 \times 10^3$	$1,12 \times 10^7$	$1,34 \times 10^3$
546 horas	$5,55 \times 10^6$	$3,51 \times 10^3$	$1,01 \times 10^6$	$1,15 \times 10^3$	$5,26 \times 10^6$	$3,79 \times 10^3$	$7,86 \times 10^5$	$1,32 \times 10^3$
840 horas	$1,25 \times 10^7$	$3,26 \times 10^4$	$2,13 \times 10^6$	$1,84 \times 10^3$	$5,09 \times 10^7$	$5,22 \times 10^4$	$1,11 \times 10^6$	$1,87 \times 10^3$

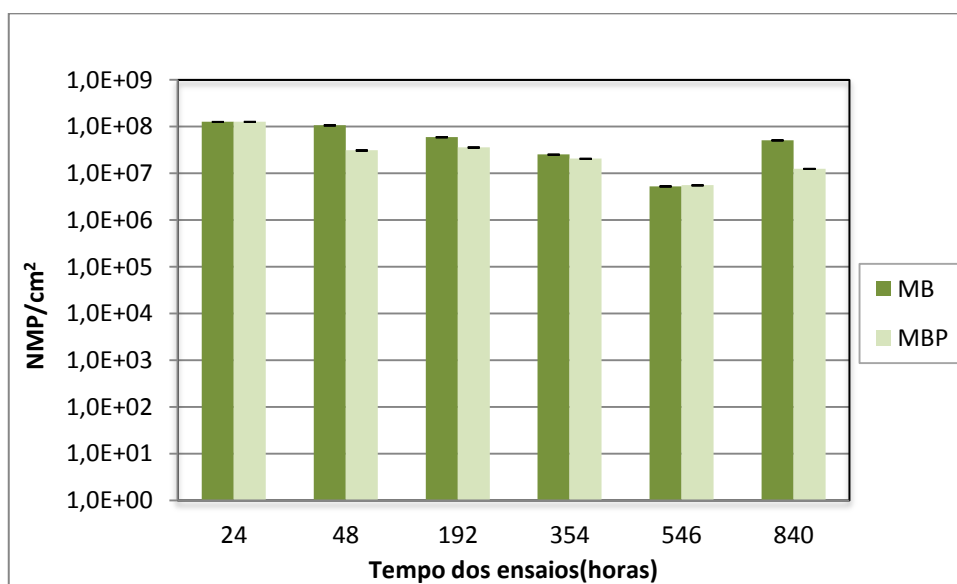


Figura 58 – Quantificação do grupo das BANHT sésseis nos corpos de prova do aço API X80 polido (MBP) e aço API X80 com superfície original (MB).

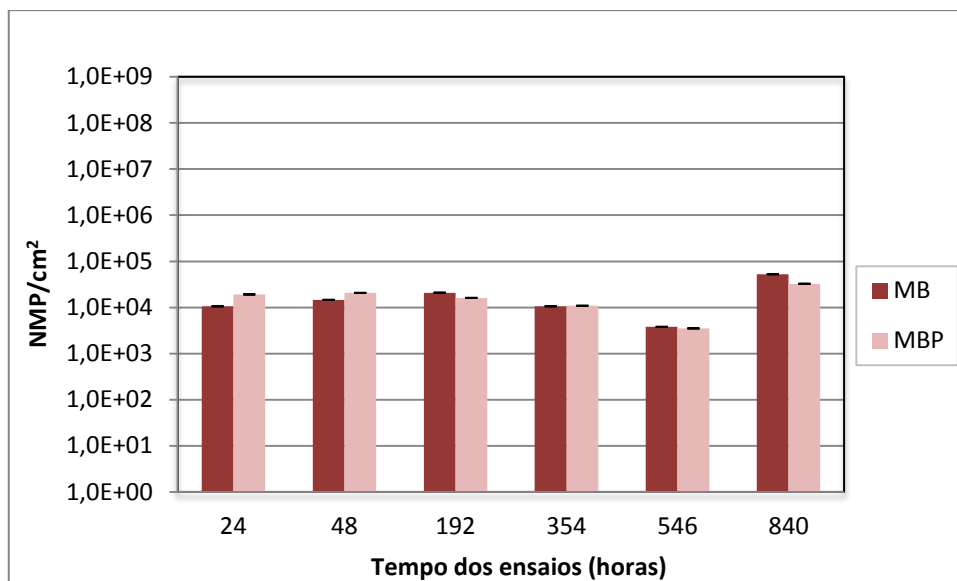


Figura 59 – Quantificação do grupo das BRS sésseis nos corpos de prova do aço API X80 polido (MBP) e aço API X80 com superfície original (MB).

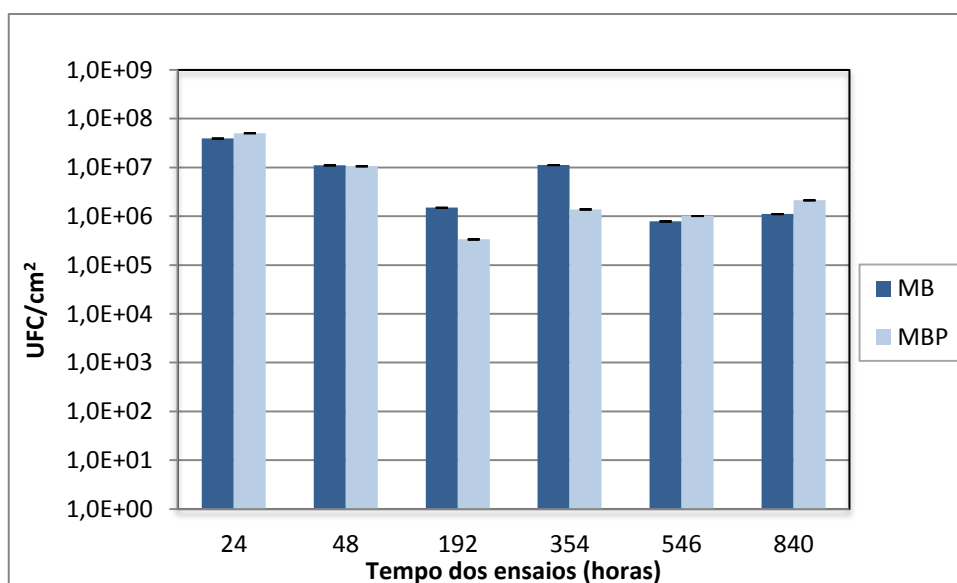


Figura 60 – Quantificação do grupo das BFHT sésseis nos corpos de prova do aço API X80 polido (MBP) e aço API X80 com superfície original (MB).

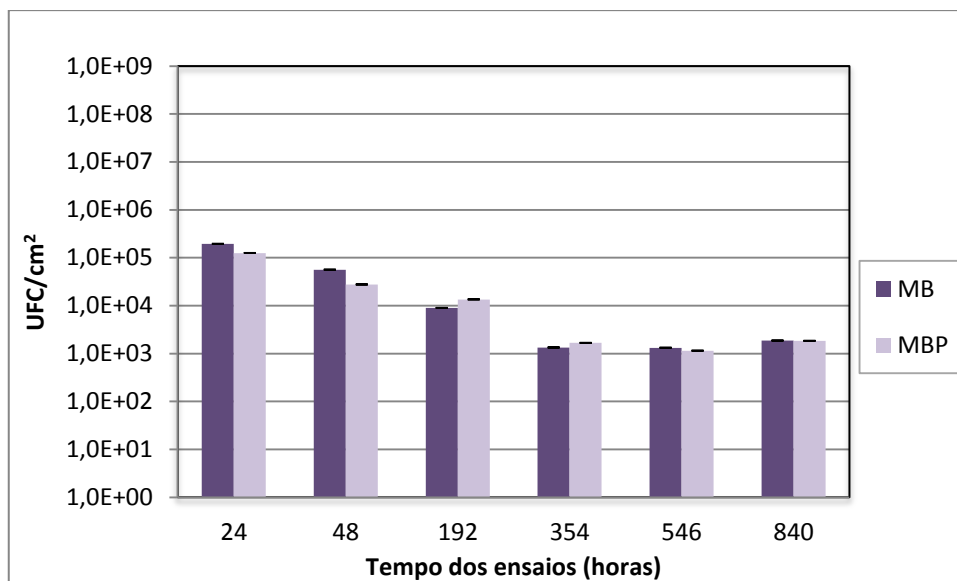


Figura 61 – Quantificação do grupo das BPF sésseis nos corpos de prova do aço API X80 polido (MBP) e aço API X80 com superfície original (MB).

5.3.2

Análise de biofilmes por MEV e EDS

Os corpos de prova utilizados nos ensaios foram previamente analisados por MEV e EDS com a finalidade de caracterizar morfológica e quimicamente as superfícies metálicas. Na figura 62 estão dispostas as imagens obtidas por MEV dos cupons de aço API X80 com polimento com pasta de diamante com granulometria de 6 μm antes dos ensaios. Já na figura 63 está o resultado do EDS realizado nesse cupom. As análises de MEV e EDS realizadas nos corpos de prova do aço API X80 com a superfície original estão dispostos, respectivamente, nas figuras 45b e 46.

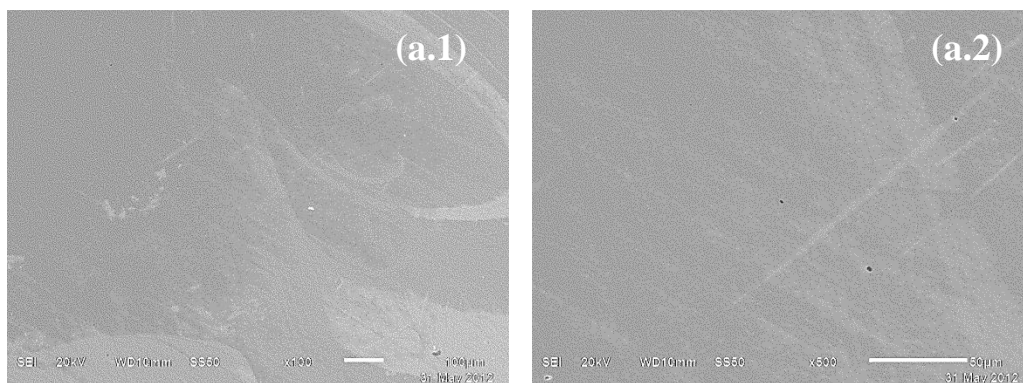


Figura 62 – Imagens dos corpos de prova do aço API X80 polido antes do ensaio. (1) Aumento de 100x, (2) Aumento de 500x.

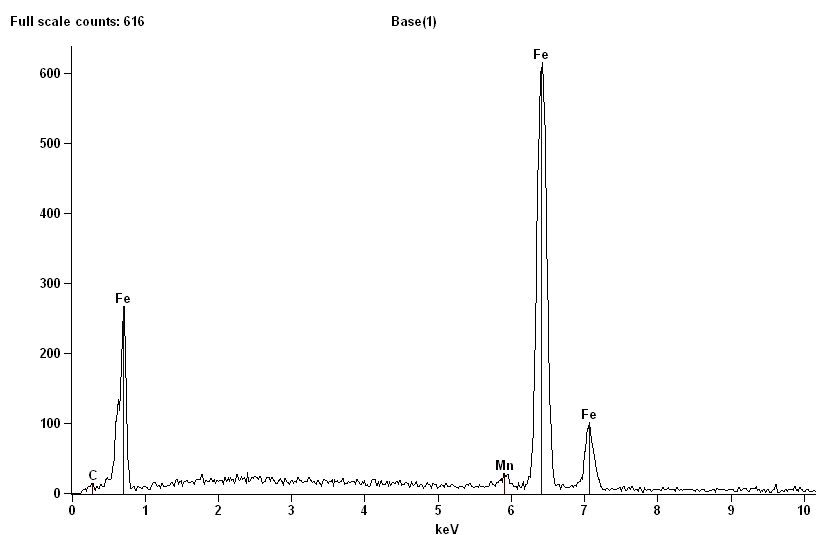


Figura 63 – Análise de EDS realizada no corpo de prova do aço API X80 polido antes da exposição ao fluido.

Os corpos de prova retirados nos seis diferentes tempos foram analisados por MEV e EDS e as imagens mostram que houve adesão bacteriana, formação de biofilme e crescimento microbiano maiores nos cupons de aço da classe API com a rugosidade original quando comparado com o aço polido.

Nas figuras de 64 a 69 encontram-se as imagens dos biofilmes formados nos corpos de prova do aço da classe API polido e do aço com a rugosidade original que foram expostos ao fluido de processo em um sistema dinâmico.

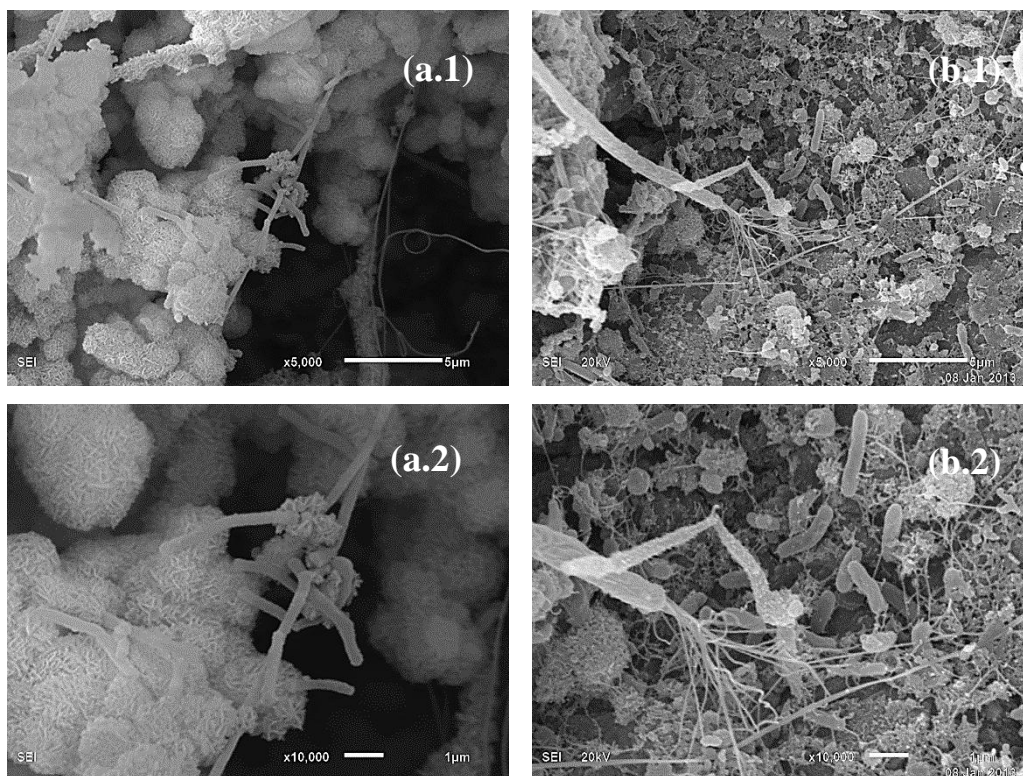


Figura 64 – Imagens dos corpos de prova após 24 horas de exposição. (a) Aço API X80 polido com pasta de diamante de 6 μm (b) Aço API X80 com superfície original. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.

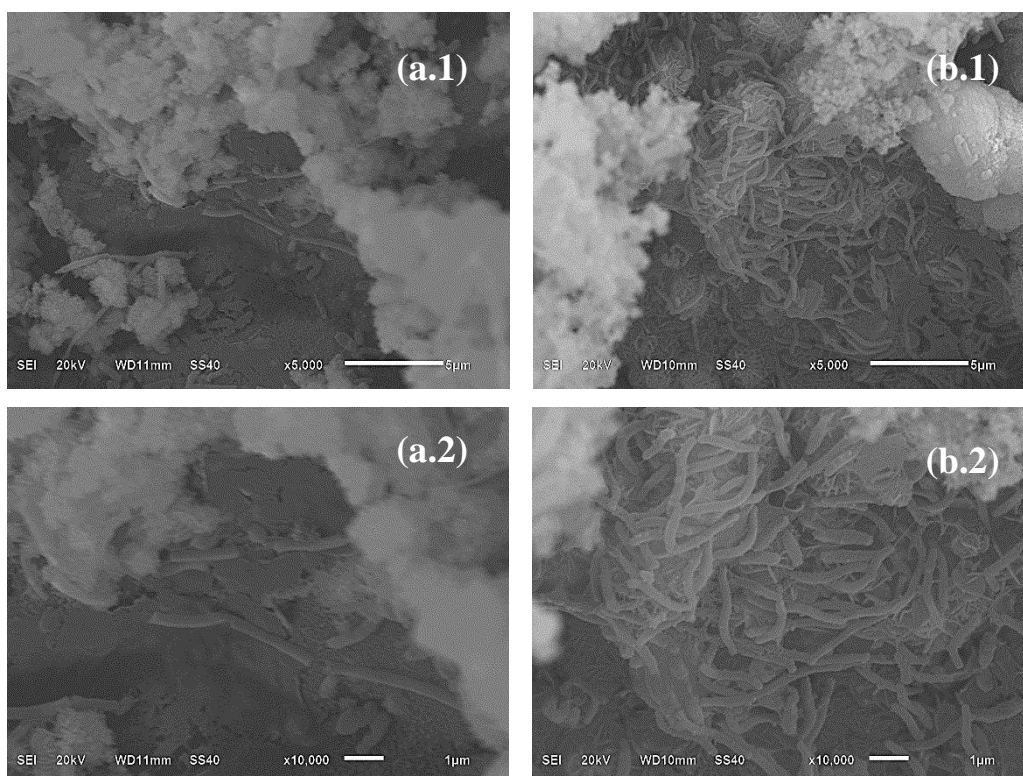


Figura 65 – Imagens dos corpos de prova após 48 horas de exposição. (a) Aço API X80 polido com pasta de diamante de 6 μm (b) Aço API X80 com superfície original. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.

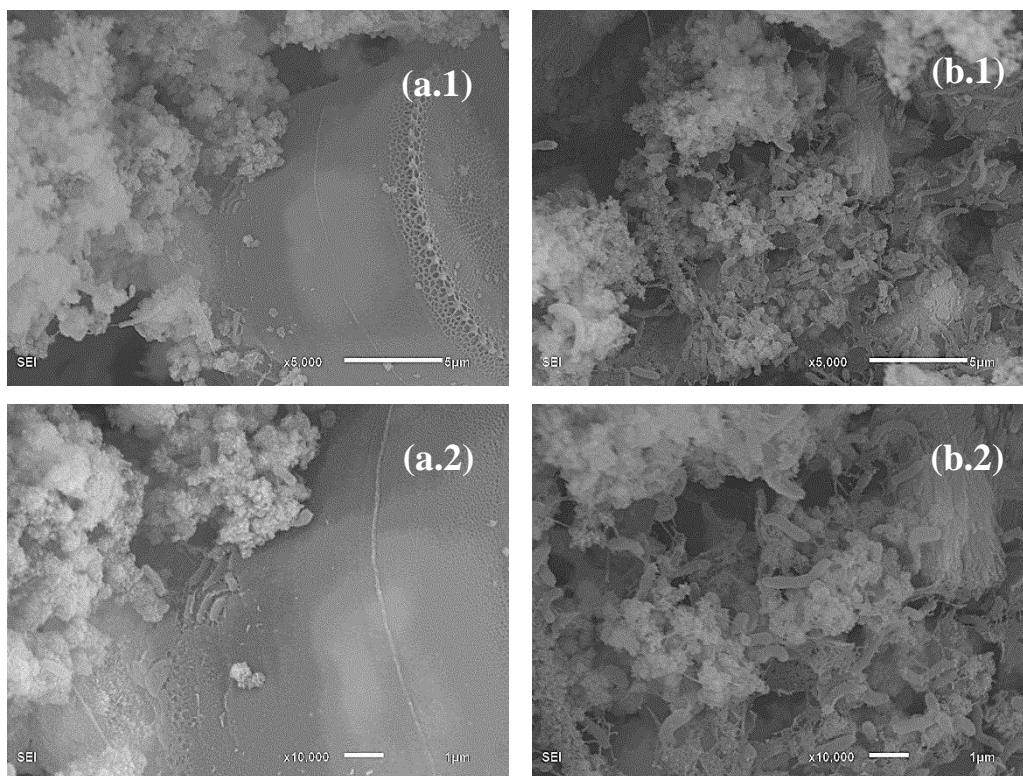


Figura 66 – Imagens dos corpos de prova após 192 horas de exposição. (a) Aço API X80 polido com pasta de diamante de 6 μm (b) Aço API X80 com superfície original. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.

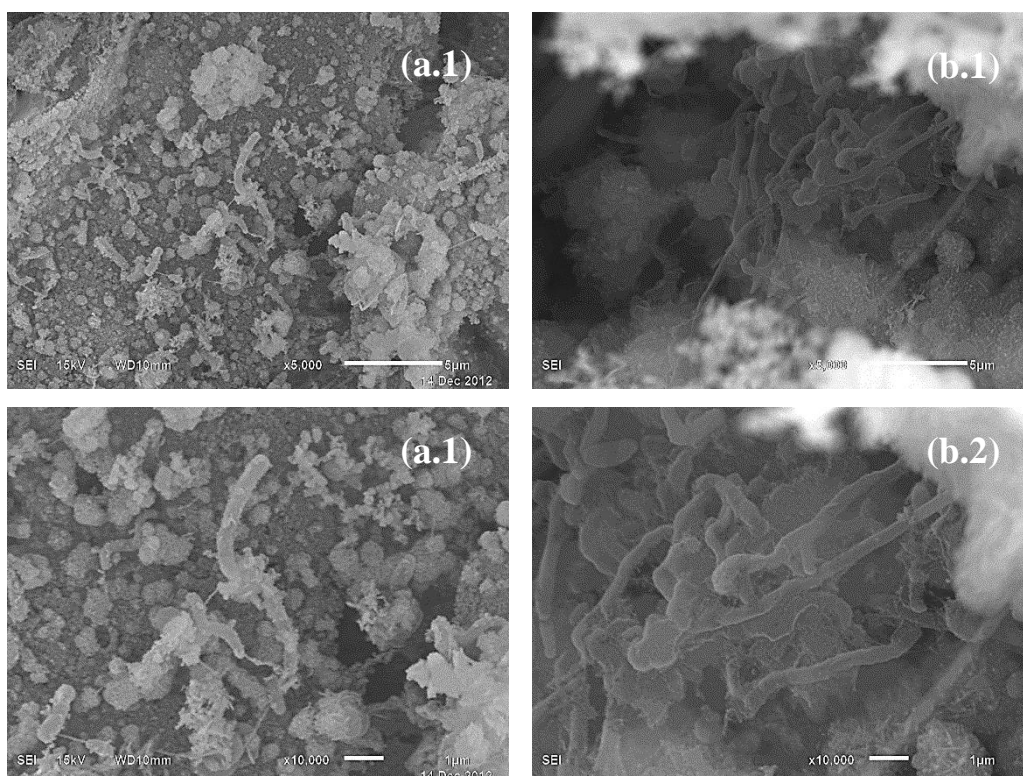


Figura 67 – Imagens dos corpos de prova após 354 horas de exposição. (a) Aço API X80 polido com pasta de diamante de 6 μm (b) Aço API X80 com superfície original. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.

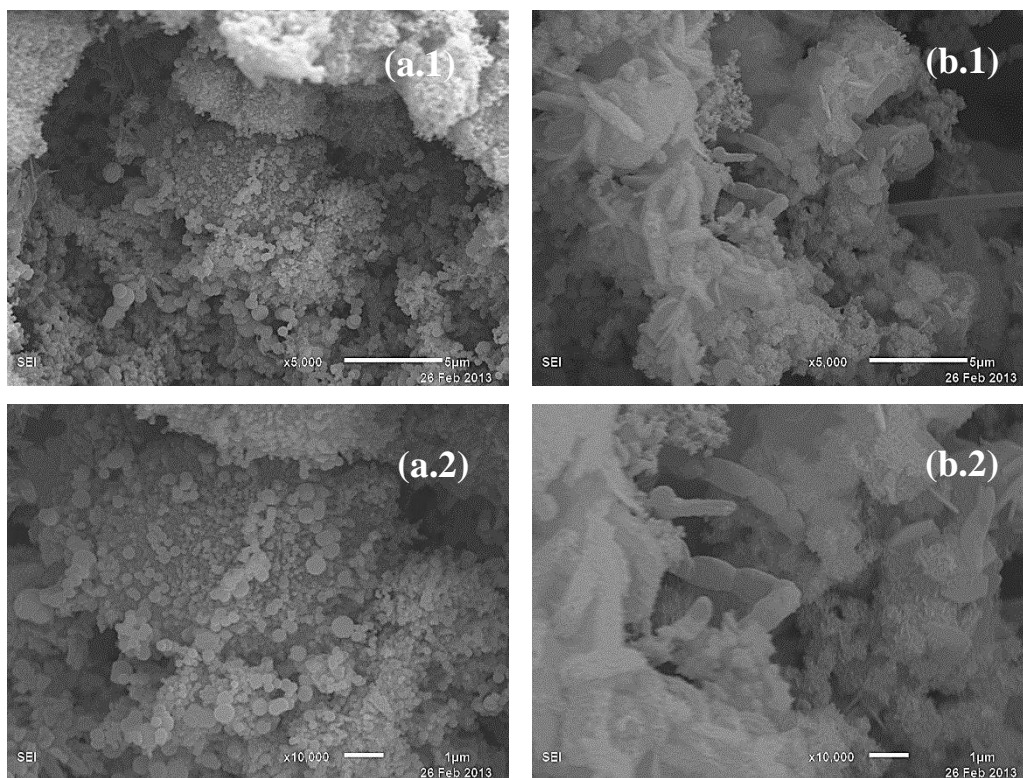


Figura 68 – Imagens dos corpos de prova após 546 horas de exposição. (a) Aço API X80 polido com pasta de diamante de 6 μm (b) Aço API X80 com superfície original. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.

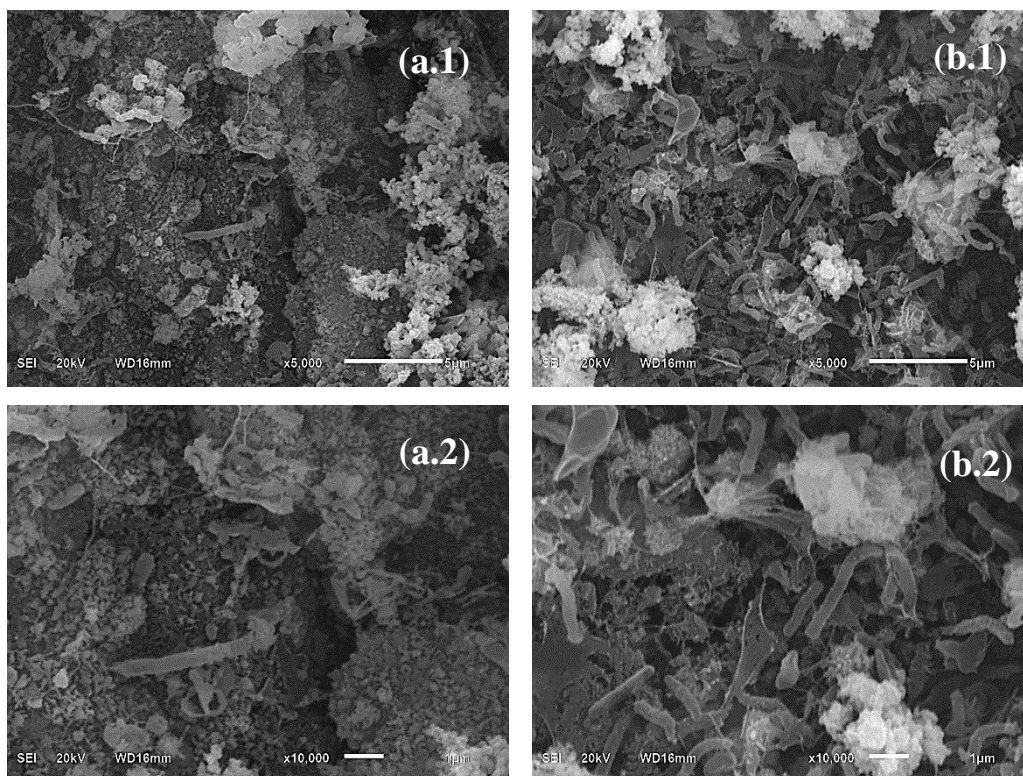


Figura 69 – Imagens dos corpos de prova após 840 horas de exposição. (a) Aço API X80 polido com pasta de diamante de 6 μm (b) Aço API X80 com superfície original. (1) Aumento de 5.000x, (2) Aumento de 10.000x.

Observa-se que em apenas 24 horas já houve um bom desenvolvimento de biofilme com características não uniformes e com uma quantidade significativa de matriz polimérica (EPS em inglês) em ambas as superfícies.

Em 48 horas nota-se um aumento bastante significativo de microrganismos aderidos à superfície do aço com a rugosidade original em face do polido. Esse perfil se mantém ao longo do tempo dos ensaios e ao final do experimento, em 840 horas (35 dias), constatou-se que a quantidade de bactérias é mais elevada no aço com a superfície original, porém possui um biofilme que provavelmente sofreu o processo de destacamento, pois apresenta uma densidade microbiana aderida menor quando comparada aos outros dias.

Os resultados obtidos pelas análises de MEV comprovam que houve uma adesão bacteriana mais favorecida na superfície do metal com rugosidade maior. Esse aumento na adesão de microrganismos em função do aumento da rugosidade pode estar associado à proteção das células contra forças de cisalhamento, pois a rugosidade da superfície pode fazer com que as células bacterianas fiquem imobilizadas favorecendo assim uma adesão diferenciada. As análises de MEV contrastam com os resultados obtidos pela quantificação microbiana que obteve uma densidade microbiana semelhante para os aços com as rugosidades diferentes, o que corrobora o fato de que a rugosidade pode influenciar uma adesão diferenciada e também pode dificultar o destacamento do biofilme para a formação de uma suspensão celular para realizar a quantificação microbiana.

No entanto de acordo com Taylor et al⁷⁸ há um decréscimo na adesão microbiana quando se aumenta os valores do parâmetro R_a em superfícies rugosas tornando a quantificação microbiana mais complexa, pois os microrganismos ficam localizados em pites e em canais nas superfícies rugosas.

Os autores Flint et al⁸¹ observaram a relação entre a rugosidade superficial e a adesão microbiana e concluíram que não há nenhuma relação entre uma adesão de bactérias diferenciada e a rugosidade da superfície, no entanto se a topografia da superfície tiver regiões que possuam um tamanho crítico próximo ao diâmetro das células bacterianas elas poderão se alojar nessas frestas.

5.3.3

Análise da taxa de corrosão localizada por pites

As avaliações da corrosão localizada nos corpos de prova com a superfície original foram realizadas por microscopia óptica com um aumento de 100 vezes e nos corpos de prova com a superfície polida foram realizadas por microscopia óptica com um aumento de 200 vezes (10x da lente condensadora e 20x da lente objetiva). Os resultados da densidade de pites e da taxa de corrosão nos corpos de prova analisados estão dispostos nas tabelas 21 e 22 respectivamente.

Analisando a figura 70 observa-se que houve um aumento gradativo do número de pites com o tempo para as duas superfícies. Ao final do experimento a densidade de pites no corpo de prova do aço API X80 com a superfície original foi superior ao aço API polido corroborando os resultados de quantificação microbiana e MEV que demonstram maior incidência de microrganismos no aço com a rugosidade original. Nota-se que houve uma redução de aproximadamente 47,2% da densidade de pites do aço polido em relação ao aço com a superfície rugosa.

Tabela 21 – Densidade de pites nos corpos de prova do aço API polido e do aço API com a superfície original durante a cinética de formação de biofilmes.

Tempo	Densidade de pites nos cupons	
	Aço API polido	Aço API
24 horas	$3,13 \times 10^6$	$2,95 \times 10^6$
48 horas	$3,49 \times 10^6$	$5,09 \times 10^6$
192 horas	$5,36 \times 10^6$	$3,93 \times 10^6$
354 horas	$1,33 \times 10^7$	$1,26 \times 10^7$
546 horas	$3,24 \times 10^7$	$2,01 \times 10^7$
840 horas	$1,23 \times 10^7$	$2,33 \times 10^7$

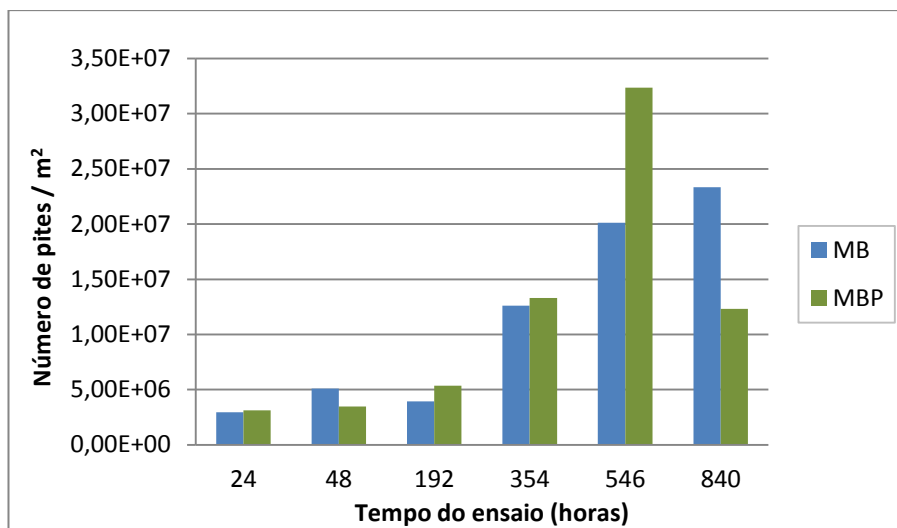


Figura 70 – Densidade de pites nos corpos de prova do aço API polido (MBP) e do aço API com a superfície original ao longo dos ensaios

A taxa de corrosão localizada por pites foi calculada de acordo com a norma NACE e analisando a tabela 21 observa-se que há muita diferença entre a profundidade dos pites e a taxa de corrosão localizada ao final dos ensaios. O corpo de prova do aço API X80 com a superfície original possui um pite aproximadamente 3,7 vezes mais profundo e uma taxa de corrosão por pites em média 72,8% maior do que o aço API polido.

Analisando os resultados obtidos da densidade de pites e da taxa de corrosão localizada observa-se que o metal de base polido é mais resistente à corrosão microbiana quando comparada ao metal de base com a superfície original.

Observa-se que a taxa de corrosão é um vetor mais indicativo da corrosão localizada, pois analisa, em uma dada região, dentre os possíveis pites, aquele com a maior profundidade ao passo que na análise da densidade de pites observam-se os possíveis pites em uma região, sendo que alguns deles podem não ser corrosões localizadas. Então o resultado da taxa de corrosão é mais expressivo para a corrosão localizada por pites quando comparado a densidade de pites.

Tabela 22 – Avaliação da taxa de corrosão localizada por pites nos corpos de prova do aço API polido e do aço API com a superfície original.

Tempo	Maior profundidade (mm)		Taxa de pites (mm/a)	
	Aço API polido	Aço API	Aço API polido	Aço API
24 horas	$2,27 \times 10^{-2}$	$1,36 \times 10^{-1}$	8,27	$4,96 \times 10^1$
48 horas	$2,09 \times 10^{-2}$	$1,01 \times 10^{-1}$	3,81	$1,85 \times 10^1$
192 horas	$3,47 \times 10^{-2}$	$1,05 \times 10^{-1}$	1,58	4,81
354 horas	$3,73 \times 10^{-2}$	$1,47 \times 10^{-1}$	$9,08 \times 10^{-1}$	3,58
546 horas	$4,58 \times 10^{-2}$	$1,97 \times 10^{-1}$	$7,59 \times 10^{-1}$	3,27
840 horas	$3,47 \times 10^{-2}$	$1,28 \times 10^{-1}$	$3,62 \times 10^{-1}$	1,33

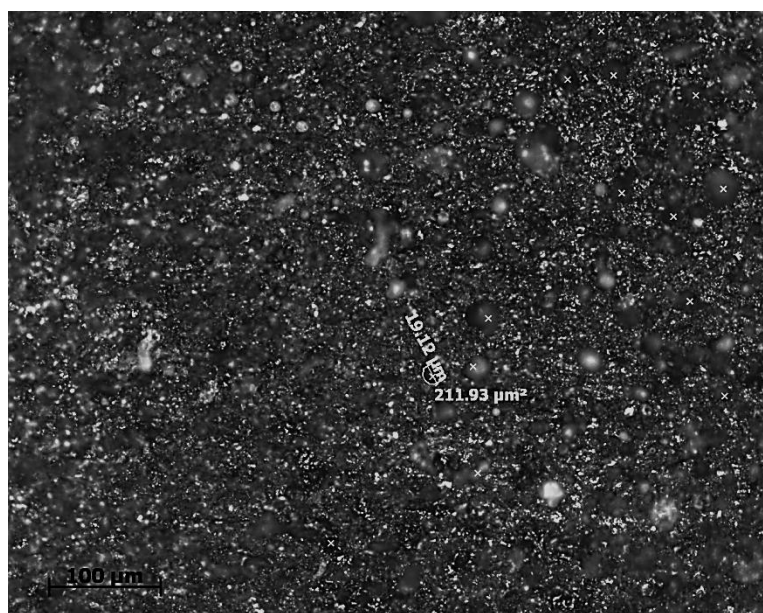


Figura 71 – Imagem de microscopia óptica da superfície do aço API X80 polido após 840 horas de exposição para a contagem de pites.

6 Conclusão

A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que houve adesão microbiana, crescimento celular, formação e desenvolvimento de biofilme nas três superfícies estudadas sob condições de regime transiente.

Observa-se que houve uma adesão microbiana e a formação de biofilmes após 24 horas de exposição ao fluido no metal de base com a rugosidade original e que após 48 horas de exposição teve um aumento da densidade microbiana formando biofilmes mais espessos. No entanto após 192 horas houve a fase de destacamento do biofilme que se procedeu ao longo do tempo. Em relação à junta soldada em 24 horas teve adesão microbiana e a formação de biofilmes, mas em 48 horas houve o destacamento do biofilme formado, sendo que em 192 horas teve uma recolonização, com nova adesão bacteriana e após 354 horas houve novamente o destacamento do biofilme formado que se ocorreu ao longo do tempo. Por fim o metal de base com a superfície polida teve o mesmo perfil de comportamento do metal de base com a rugosidade original, onde após as 48 horas de exposição houve a adesão microbiana, formação e desenvolvimento dos biofilmes e que após 192 horas houve o processo de destacamento.

Os corpos de prova foram colocados em diferentes posições em cada ensaio realizado a fim de que as superfícies analisadas estivessem sob as mesmas condições para assim verificar se o posicionamento teria algum efeito sobre a adesão microbiana. Analisando os resultados obtidos dos três testes concluiu-se que a posição dos corpos de prova não influenciou na adesão microbiana.

Comparando as superfícies junta soldada e metal de base (Aço API X80) ambos com a superfície original, notou-se que a quantificação microbiana no metal de base foi levemente maior do que na junta soldada e que houve a formação de um biofilme mais volumoso no metal de base do que na junta soldada quando se compara as imagens de MEV, o que nos leva a concluir que nas condições experimentais deste trabalho não houve relação entre irregularidades na superfície sólida (cordão de solda) e a adesão bacteriana. As

irregularidades não induzem a uma adesão microbiana diferenciada de acordo com os resultados obtidos, mas pode-se dizer que houve um destacamento dos biofilmes mais rápido na junta soldada quando comparada com o metal de base.

Confrontando as superfícies com rugosidades diferentes, aço API X80 com superfície original e aço API X80 com polimento, observou-se que a quantificação microbiana no aço com superfície original foi levemente maior do que no aço com polimento. Já quando se compara as imagens de MEV nota-se que houve a formação de um biofilme bem mais volumoso no aço com a superfície original do que no aço com polimento, confirmando que há uma maior adesão microbiana em superfície com maior grau de rugosidade. Provavelmente o biofilme formado na superfície do metal de base polido era mais instável, visto que a fase de destacamento foi mais acentuada quando comparado ao metal com a superfície com a rugosidade original.

As medidas da densidade de pites e taxa de corrosão evidenciam a influência das características superficiais onde uma maior densidade de pites e taxa de corrosão foram obtidos para o metal de base em relação a junta soldada e o metal de base com a rugosidade original em relação a superfície polida.

- 1 HENDERSON, S.B.; GRIGSON, S.J.W.; JONHSON, P. RODDIE, B.D. Potencial Impact of Production Chemicals on the Toxicity of Produced Water Discharges from North Sea Oil Platforms. **Marine Pollution Bulletin**, v. 38, n. 12, p. 1141-1151, 1999.
- 2 STEPHENSON, M.T. Components of Produced Water: A Compilation of Results from Several Industry Studies. **Journal of Petroleum Technology**, v. 44, n. 5, p.25-38, May. 1991. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00023313>> Acesso em: 10 ago. 2013.
- 3 NEUMANN, B., **Avaliação de nova metodologia para detecção de microrganismos redutores de sulfato (MRS) aplicada à indústria de petróleo e gás**. Espírito Santo, 2012. 127p. Dissertação de Mestrado (Engenharia Ambiental) – Centro Tecnológico, Universidade Federal do Espírito Santo.
- 4 FAUQUHAR, G. B. Review and update of technology related to formation souring. In: CORROSION 1997, New Orleans. **Proceedings....**Houston: NACE International, 1997.
- 5 GENTIL, V. **Corrosão**. 6.ed. São Paulo: Livros Técnicos e Científicos. Editora S.A., 2011. 392p.
- 6 POPE, D.H. et al. **Microbiologically influenced corrosion: a State-of-the-art Review**. New York: Rensselaer Polytechnic Institute, 1984.
- 7 CHARACKLIS, W.G; MARSHALL, K.C. (Org.). **Biofilms**. ed. New York: John Wiley & Sons, Inc, 1990.
- 8 VIDELA, H.A., **Biocorrosão, biofouling e biodeterioração de materiais**, 1.ed. São Paulo: Edgard Blucher Ltda, 2003, 148p.
- 9 PAGNIN, S., **Formação de Biofilme em Aço Superduplex UNS S32750 em Sistema Dinâmico**. Rio de Janeiro, 2008. 109p. Dissertação de Mestrado (Ciência dos Materiais e Metalurgia) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.
- 10 BALLESTEROS, A.F., **Avaliação da resistência de juntas soldadas circunferenciais de aço API 5L X-80 à corrosão sob tensão na presença de sulfetos e susceptibilidade à fragilização por hidrogênio**. Rio de Janeiro, 2009. 290p. Tese de Doutorado (Engenharia de Materiais) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

- 11 CHIAVERINI, V., **Aços e ferros fundidos**. 7.ed. São Paulo: Associação Brasileira de Metalurgia, Materiais e Mineração (ABM), 2012. 600p.
- 12 ASM Handbook, Volume 1, Properties and Selection: Irons, Steels and High Performance Alloys. Published in 1993. ISBN 0-87170-377-7 (v.1). SAN 204-7586. Printed in the United States of America.
- 13 MODENESI, P. J., **Soldabilidade dos aços transformáveis**. Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais. Belo Horizonte, Março de 2004.
- 14 SPECIFICATION FOR LINE PIPE, API SPECIFICATION 5L. American Petroleum Institute, March 2004.
- 15 FERNANDES, P. E. A., **Avaliação da tenacidade à fratura na zona afetada pelo calor (ZAC) do aço API 5L X80 soldado por processo SMAW e FCAW/P.E.A.** São Paulo, 2011. 110p. Tese de Doutorado (Engenharia Naval e Oceânica) – Universidade de São Paulo, Escola Politécnica.
- 16 GRAY, J.M., PONTREMOLI, M. **Metallurgical options for API grade X70 and X80 linepipe**. In: International Conference Pipe Technology , Rome – Italy, Nov. 1987.
- 17 GRAY, J.M. **Recent Developments in Plate and Linepipe Steels**. In: Sino-Brazilian Symposium: Niobium in Steels and Alloys. Proceedings. CBMM, Beijing, 1999, 15-62.
- 18 GORNI, A. A., SILVEIRA, J. H. D., REIS, J. S. S., **Metalurgia dos aços microligados usados na fabricação de tubos soldados com grande diâmetro**. Tubo & Companhia, 5:26, Set-Out 2009, 52-63.
- 19 PARANHOS, R. P. R., SOUZA, A. C., **Soldagem a Arco Submerso**; Coleção Soldagem, Firjan/Senai, Rio de Janeiro, 1999.
- 20 LANCASTER, J. F., **Metallurgy of Welding**, 6ed. England: Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 1999.
- 21 ZEEMAN, A., **Soldagem de Tubos**, TECMETAL. Outubro de 2006.
- 22 PORTER, D. A., EASTERLING, K. E., **Phase Transformations in Metals and Alloys**, 1.ed. New York: Campman and Hall, 1992. 514p.
- 23 MOTA, K. A., **Microscopia de Biofilmes em Substrato Metálico Formado em Sistemas Estáticos e Dinâmicos na Presença de Fluido Oleoso**. Rio de Janeiro, 2009. 128p. Dissertação de Mestrado (Engenharia de Materiais) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.
- 24 ZEEMAN, A., **A Corrosão em Junta Soldada**. Infolsolda, 2003. Disponível em: <<http://www.infosolda.com.br/artigos/metalurgia/315-corrosao-em-juntas-soldadas.html>> Acessado em: 20 maio de 2013.

- 25 FONTANA, M. G., **Corrosion Engineering**, 3ed. New York: McGraw-Hill International Edition, 1987, 287p
- 26 Portal da Galvanização. **Corrosão**. Disponível em: <<http://www.icz.org.br/portaldagalvanizacao/galvanizacao-corrosao.php>> Acesso em: 31 jan. 2013.
- 27 ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CORROSÃO – ABRACO. **Corrosão: Uma abordagem geral**. Disponível em: <http://pessoal.utfpr.edu.br/israel/arquivos/Teoria_Corrosao_Abraco.pdf> Acessado em: 20 maio 2013.
- 28 ARRUDA, E. A. F., **Estudo comparativo do processo corrosivo do aço patinável e do aço carbono comum**. Pará, 2009. 80p. Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Mecânica – Universidade Federal do Pará.
- 29 GAYLARDE, C.C.; VIDELA, H.A. **Bioextraction and biodeterioration of metals**. In The biology of world resources series. Cambridge University Press, 1995.
- 30 WOLYNEC, S., **Técnicas Eletroquímicas em Corrosão**. São Paulo: EDUSP, 2003, 165p.
- 31 SHI, X., Shi, X. et al. Comparative study in chemistry of microbially and electrochemically induced pitting of 316L stainless steel. **Corrosion Science**, v.45, 2577–2595.[S.I.] ed. Elsevier Ltda., 2003. Disponível em: <www.sciencedirect.com>. Acesso em: 10 jul. 2012.
- 32 LANDOLT, D. **Corrosion and Surface Chemistry of Metals**. Switzerland: EPFL Press, 2007, 615p.
- 33 KELLY, R.G. et al. **Electrochemical techniques in corrosion science and engineering**. 1ed. New York: Marcel Dekker, 2003, 427p.
- 34 **Biofilm: The Key to Understanding and Controlling Bacterial Growth in Automated Animal Drinking Water Systems**. EDSTTROM. Disponível em: <<http://www.edstrom.com/file.aspx?DocumentId=21>> Acesso em: 20 set. 2012.
- 35 JAVAHERDASHTI, R. **Microbiologically Influenced Corrosion: an Engineering Insight**. London: Springer, 2008. 164p.
- 36 DE ROMERO, M. et al, Online Monitoring Systems of Microbiologically Influenced Corrosion on Cu-10% Ni Alloy in Chlorinated, Brackish Water. **Corrosion**, v. 56, No.8, 867-876, 2002. NACE International.
- 37 LI, S. Y., KIM, Y. G., KHO, Y. T., Corrosion Behavior of Carbon Steel Influenced by Sulfate-Reduction Bacteria in Soil Environments, **Corrosion Paper No. 03549**, 2003. NACE International.
- 38 LITTLE, B., WAGNER, P., **Microbiologically Influenced Corrosion** Houston: NACE International, 1997.

- 39 SOOKNAH, R., PAPA VINASAM, S., REVIE, R.W., Modelling The Occurrence of Microbiologically Influenced Corrosion. **NACE Corrosion Conference & Expo 2007**, Paper No. 07515, 2007.
- 40 LOPES, F.A. et al. The influence of nickel on the adhesion ability of *Desulfovibrio desulfuricans*. **Colloids and Surface B: Biointerfaces**, v.46, p.127-133, 2005.
- 41 TIDE, C. et al. The Influence of Welding Procedures on bacterial Colonization of Stainless Steel Weldments. **Journal of Food Engineering**. v.42, p. 85-96, 1999.
- 42 PIRATELLI FILHO, A. **Rugosidade Superficial**. 3º Seminário de Metrologia. Universidade de Brasília. Disponível em: <http://www.posgrad.mecanica.ufu.br/metrologia/arquivos/Palestra_UFU_17_05_2011.pdf> Acesso em: 14 fev. 2013.
- 43 ABNT NBR ISO 4287, Especificações geométricas do produto (GPS) – **Rugosidade: método do perfil** – Termos, definições e parâmetros de rugosidade. ABNT, 2002.
- 44 HILBERT, L. R. et al. Influence of Surface Roughness of Stainless Steel on Microbial Adhesion and Corrosion Resistance. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.52, p. 175 – 185, 2003.
- 45 MADIGAN, M. T., et al. **Brock Biology of Microorganisms**, 13ed. São Francisco. Inc. Benjamin Cummings, 2011, 522p.
- 46 SHAMS EL DIN, A.M., SABER, T. M. H., HAMMOUN, A. A., Biofilm Formation on Stainless Steels in Arabian Gulf Water. **Desalination**, v.107, p.251-264, 1996.
- 47 MARTINEZ, L. et al. High Temperature Microbial Corrosion in the Condenser of a Geothermal Electric Power Unit. **NACE Corrosion Conference & Expo 1996**, Paper No. 293, 1996.
- 48 HAMILTON, W.A. Sulphate-reducing bacteria and anaerobic corrosion. **Annual Rev. Microbiol.**, v.39, p.195–969, 1985.
- 49 DECKER, R.F. **Biotechnology/Materials: The Growing Interface**. Metallurgical Transactions A. Volume 17A, jan. 1986.
- 50 ROBERTSON, L.A.; KUENEN, J.G. **The colorless sulphur bacteria**. In: M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.H. Schleifer, E. Stackebrandt (Eds.), *The Prokaryotes*, vol. 2, 3rd ed., Springer, New York, 2006, p. 985–1011.
- 51 CYPIONKA, H. Solute Transport and Cell Energetics. In: **Biotechnology Handbooks: Sulfate-reducing bacteria v.8**. New York: Plenum Press, 1995.
- 52 GIBERT et al. Treatment of acid mine drainage by sulphate-reducing bacteria using permeable reactive barriers: A review from laboratory to full-scale

- experiments. Reviews in **Environmental Science & Bio/Technology**. v. 1, p. 327-333, 2002.
- 53 BARTON, L. **Sulfate reducing bacteria**, **Biotechnology Handbooks** ed. Plenum Press, v.8, p. 50-55, New York, EUA, 1995.
 - 54 POSTGATE, J.R. **The Sulphate-Reducing Bacteria**, 2ed., Cambridge University Press, 1984.
 - 55 KLEIKEMPER, J. et al. Activity and Diversity of Sulfate-Reducing Bacteria in a Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Aquifer. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 4, p. 1516-1523, 2002.
 - 56 VOORDOUW, G. The Genus *Desulfovibrio*. **The Centennial. Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 8, p. 2813-2819, 1995.
 - 57 FOUQUE, G.D. Ecology of Sulfate-Reducing Bacteria. In: **Biotechnology Handbooks: Sulfate-reducing bacteria v.8**. New York: Plenum Press, 217-241, 1995.
 - 58 EDEN, B., LAYCOCK, P.J.; FIELDER, M. **Oilfield Reservoir Souring**. CAPCIS, Short Course, CENPES, 1994.
 - 59 SUNDE, E.; THORSTENSON, T. **Growth of Bacteria on Water Injection Additives**, SPE 20690, 1990.
 - 60 CETESB. **Contagens de colônias de bactérias que precipitam o ferro**. Norma L5.207, p. 1-11, 1992.
 - 61 HALBACH, M., KOSCHINSKY, A., HALBACH, P. **Report on the discovery of *Gallionella ferruginea* from an active hydrothermal field in the deep sea**. InterRidge News, 10, no. 1., 18-20, 2001.
 - 62 GESEY, G.G. et al. Microscopic Examination of Sessile Bacterial Populations from Alpine Stream. **Can J Microbiol**, v. 23, p. 1733-1736, 1977.
 - 63 ZHANG, R. et al. Structure of a Bacterial Quorum-sensing Transcription Factor Complexed with Pheromone and DNA. **Nature**, v. 417, p. 971-974, 2002.
 - 64 CHARACKLIS, W.G. Fouling Biofilm Development: a process analysis. **Biotechnol Bioeng**, v. 23, p. 1927-1960, 1981.
 - 65 BREYERS, J. D.; RATNER, J. P. Bioinspired Implant Materials Befuddle Bacteria. **ASM News**, v. 70, p. 232-237, 2004.
 - 66 CHRISTENSEN, B.E.; CHARACKLIS, W.G. Physical and Chemical Properties of Biofilms. In: **CHARACKLIS, W.G.; MARSHALL, K.C. (eds) Biofilms**. Wiley, New York, pp 93-130, 1990.

- 67 NIELSEN, P.H.; JAHN, A.; PALMGREN, R. Conceptual Model for Production and Composition of Exopolymers in Biofilms. **Wat Sci Tech**, v. 36, p.11-19, 1997.
- 68 COSTERTON, J.W.; STEWART, P.S.; GREENBERG, E.P. Bacterial Biofilms: a common cause of persistent infections. **Science**, vol. 284, p. 1318-1322, 1990.
- 69 BEECH, I.B.; HANJAGSIT, H.; KALAJI, M.; NEAL, A.L. Chemical and Structural Characterization of Exopolymers Produced by *Pseudomonas* sp. NCIMB 2021 in continuous culture. **Microbiology**, 145, 1491-1497, 1999.
- 70 BEECH, I.B.; GAYLARD, C.C. Microbial Polysaccharide and Corrosion. **Internacional Biodeterioration**, v. 27, p. 95-107, 1991.
- 71 BORENSTEIN, S.W. **Microbiologically Influenced Corrosion Handbook**. UK: Woodhead Publishing, Cambridge, 1994.
- 72 FERNANDES, P. E. A. **Avaliação da Tenacidade à Fratura na Zona Afetada pelo Calor (ZAC) do Aço API 5L X80 Soldado pelos Processos SMAW e FCAW**. São Paulo, 2011. 110p. Tese de Doutorado (Engenharia Naval e Oceânica) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.
- 73 CRAVO Jr., W. B. **Estudo do efeito de diferentes parâmetros na formação de biofilmes e no processo de biocorrosão**. Rio de Janeiro, 2004. 113p. Tese de Doutorado (Escola de Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- 74 APHA. American Publish Halth Association/AWWA. American Water Works Association/WEF. Water Environment Federation. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. APHA, Washington. 21st edition. 2005.
- 75 JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique** New York McGraw-Hill, 1940.
- 76 DEDAVID, B. A., GOMES, C. I., MACHADO, G. **Microscopia Eletrônica de Varredura**: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007, 60p.
- 77 MENDONÇA FILHO, J. C. et al. **Caracterização da Contaminação por Petróleo e seus Derivados na Baía de Guanabara**: Aplicação de Técnicas Organogeoquímicas e Organopetrográficas. Anuário do Instituto de Geociências – UFRJ, 26, 69-78, 2003.
- 78 TAYLOR, R.L. et al. The Influence of Substratum Topography on Bacterial Adhesion to Polymethyl Methacrylate. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 9, p. 17-22, 1998.
- 79 FERRIS, F.G. et al. Metal Interactions with Microbial Biofilms in Acidic and Neutral pH Environments. **Appl Environ Microbiol.**, v. 55, p. 1249-1257, 1989.

- 80 HERMANOWICZ, S.W.; DANIELSON, R.E.; COOPER, R.C. Bacterial deposition on and detachment from surfaces in turbulent flow. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 33, p. 157-163, 1989.
- 81 FLINT, S. H., BROOKS, J. D., BREMER, P.J.; Properties of the Stainless Steel Substrate, Influencing the Adhesion of Thermo-resistant *Streptococci*. **Journal of Food Engineering**, v. 43, p. 235-242, 2000.
- 82 FERON, D. **Attachment of *Desulfovibrio vulgaris* to steels**: influence of alloying elements, In: Tiller, A.K.; Sequeira, C.A.C. Proceedings of the 3rd International EFC Workshop, Estoril, Portugal, p.119, 1994.
- 83 PERCIVAL, S.L. et al. Biofilms, main water and stainless steel. **Water Research**, 32, n.7, 2187-2201, 1997 [S.l.:s.n.]. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/>> Acesso em: 15 jul. 2012.
- 84 YUAN, S.J.; PEHKONEN, S.O. Microbiologically influenced corrosion of 304 stainless steel by aerobic *Pseudomonas* NCIMB 2021 bacteria: AFM and XPS study. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 59, p. 87–99, 2007.
- 85 DEFLAUN, M. A. S. et al. Development of an adhesion assay and characterization of an adhesion deficient mutant of *Pseudomonas fluorescens*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 56, p. 112-119, 1990.
- 86 MCCALOU, D.R.; BALES, R.C.; ARNOLD, R.G. Effect of temperature controlled motility on transport of bacteria and microspheres through saturated sediment. **Water Res.**, v. 31, p. 271-280, 1995.
- 87 GANNON, J.T.; MANILAL, V.B.; and ALEXANDER, M. Relationship between cell surface properties and transport of bacteria through soil. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 57, p. 190-193, 1991.
- 88 VAN SCHIE, P.M., FLETCHER, M. Adhesion of biodegradative anaerobic bacteria to solid surfaces. *Appl. Environ Microbiol*, v. 65, p. 5082-5088, 1999.
- 89 MCELLOWNEY, S.; FLETCHER, M. Effect of growth conditions and surface characteristics of aquatic bacteria on their attachment to solid surfaces. **J. Gen. Microbiol.**, v. 132, p. 513-523, 1986.
- 90 KJELLEBERG, S.; HERMANSSON, M. Starvation-induced effects on bacterial surface characteristics. **Appl. Environm. Microbiol.**, v. 48, p. 497-503, 1984.
- 91 BEECH, I. B.; SUNNER, J. Biocorrosion: Towards Understanding Interaction between Biofilms and Metals. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 15, p. 181-186, 2004.