

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

CENTRO DE TECNOLOGIA

ESCOLA DE QUÍMICA

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS NA CORROSÃO
MICROBIOLOGICAMENTE INDUZIDA DO AÇO
CARBONO AISI 1018**

DIOGO SIMAS BERNARDES DIAS

Professor Orientador

ELIANA FLÁVIA CAMPORESE SÉRVULO, D. Sc.

FRANCISCA PESSÔA DE FRANÇA, D. Sc.

Rio de Janeiro

2009

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS NA CORROSÃO
MICROBIOLOGICAMENTE INDUZIDA DO AÇO CARBONO AISI 1018**

Monografia submetida ao corpo docente da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Engenheiro Químico.

Diogo Simas Bernardes Dias

Aprovado por:

Aike Costa da Silva, M. Sc.

Flávia Padilha Bastos dos Santos, M. Sc.

Ulrich Vasconcelos, M. Sc.

Orientado por:

Eliana Flávia Camporese Sérvulo

Francisca Pessôa de França

Rio de Janeiro, abril de 2009.

Ficha catalográfica

Dias, Diogo Simas Bernardes. Avaliação DE Parâmetros na corrosão microbiologicamente induzida do aço carbono AISI 1018/ Diogo Simas Bernardes Dias. Rio de janeiro: UFRJ/EQ, 2009.

Dedicatória

Dedico aos meus pais e meu irmão que foram, são e serão fundamentais em todos os momentos da minha vida.

Agradecimentos

O presente trabalho foi desenvolvido nos laboratórios E-109, E-107 e E-101 do Departamento de Engenharia Bioquímica da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Agradeço a Deus por me proporcionar saúde para conseguir atingir esse sonho.

À toda a minha família, em especial meu pai Giovanni Pessoa Dias, à minha mãe Sandra Maria Simas Bernardes Dias e ao meu irmão Vinícius Simas Bernardes Dias pela fundamental ajuda para concretizar essa etapa.

À professora Eliana Flávia Camporese Sérvulo pela orientação profissional e acadêmica, e o grande carinho que demonstra.

À professora Francisca Pessôa de França pela orientação conferida ao desenvolvimento do trabalho.

À UFRJ que me proporcionou adquirir conhecimento.

Aos amigos do laboratório e das salas de aula, pois sem eles sei que não seria possível concluir esta etapa de minha vida.

Aos amigos de Petrópolis que me ajudaram sempre com companheirismo.

Resumo da monografia apresentada a Escola de Química como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Engenheiro Químico.

Avaliação de parâmetros na corrosão microbiologicamente induzida do aço carbono AISI 1018

Diogo Simas Bernardes Dias

Abril de 2009

Orientadoras: Eliana Flávia Camporese Sérvulo, D. Sc. e Francisca Pessôa de França, D. Sc.

Uma das maiores causas de prejuízos econômicos nas indústrias químicas e petroquímicas está relacionada à deterioração dos materiais por ação dos microorganismos, principalmente de equipamentos, tubulações e navios. Ao longo dos anos, diversos estudos foram conduzidos e novas tecnologias desenvolvidas para a obtenção de materiais mais resistentes ou para definir estratégias de prevenção e/ou controle da corrosão dos metais. No presente estudo foram avaliadas as influências do CO₂, temperatura e nitrato de sódio na formação de biofilmes e na deterioração de aço carbono AISI 1018. Os experimentos foram realizados de forma dinâmica em sistema *looping*, utilizando como fluido de processo, água do mar *in natura* coletada na Baía de Guanabara no Rio de Janeiro. A vazão de circulação da água foi de 3 L/min., equivalente a um regime de escoamento laminar. Os resultados obtidos mostraram que as diferentes populações microbianas quantificadas, Bactérias Aeróbias Heterotróficas Totais (BAHT), Bactérias Aeróbias Produtoras de Ácido (BAPA), Bactérias Anaeróbias Totais (BANT), Bactérias Anaeróbias Produtoras de Ácido (BANPA) e Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS), apresentaram máximos de crescimento na temperatura de 30°C, e taxas corrosão mais elevadas onde se tinha maior presença de microorganismos. A presença de CO₂ tornou o meio mais corrosivo, detectando-se uma alta taxa de corrosão dos corpos de prova, entre 0,450 a 5,950 mm/ano, mesmo não havendo a presença das BANPA, para as populações das BAHT, das BRS e das BAPA o aumento da vazão de CO₂ teve efeito inibitório. O nitrato de sódio foi caracterizado como biocida, porém as taxas de corrosão foram consideradas severas, de acordo com a classificação da NACE, com valores de 0,500mm/ano, em média.

Lista de abreviaturas

BANPA – Bactérias Anaeróbias Produtoras de Ácido

BANT– Bactérias Anaeróbias Totais

BAPA – Bactérias Aeróbias Produtoras de Ácido

BAHT – Bactérias Aeróbias Heterotróficas Totais

BRN – Bactérias Redutoras de Nitrato

BRS – Bactérias Redutoras de Sulfato

CMI – Corrosão Microbiologicamente Induzida

SPE – Exopolímeros

FSO – Floating, Storage and Offloading

THPS – Sulfato de tetraquishidroximetil fosfônio

UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro

Índice

1 – Introdução	13
2 – Objetivos	16
2.1 – Objetivo geral	16
2.2 – Objetivos específicos	16
3 – Revisão bibliográfica	17
3.1 – Corrosão	17
3.1.1 – Classificação da corrosão	17
3.2 – Corrosão Microbiologicamente Induzida	18
3.2.1 – Biofilmes	19
3.2.2 – Mecanismos de formação e desenvolvimento de biofilmes	20
3.2.3 – Micro-organismos que participam da CMI	21
3.2.3.1 – Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS)	23
3.3 – Fatores que interferem na CMI	23
3.4 – Métodos de Controle para CMI	24
3.4.1 – Biocidas	25
3.4.2 – Utilização do nitrato de sódio em plataformas <i>offshore</i> no controle das BRS	25
4 – Materiais e métodos	28

4.1 – Corpos-de-prova	28
4.2 – Fluido de processo	28
4.3 – Sistema <i>looping</i> para condução dos experimentos	28
4.4 – Ensaio de biocorrosão	30
4.4.1 – Experimento 1: Influência na formação de biofilme e na corrosão do aço carbono AISI 1018	30
4.4.2 – Experimento 2: Influência formação de biofilme e na corrosão do aço carbono AISI 1018	32
4.4.3 – Experimento 3: Monitoramento da aplicação do nitrato de sódio como biocida	32
4.5 – Determinações quantitativas	33
4.5.1 – Micro-organismos	33
4.5.2 – Taxa de corrosão	36
5 – Resultados	38
5.1 – Influência do dióxido de carbono na formação de biofilme e na corrosão do aço carbono AISI 1018	38
5.2 – Influência da temperatura na corrosão do aço carbono AISI 1018	42
5.3 – Monitoramento da atuação do nitrato de sódio como biocida	45
6 – Conclusões	51
7 – Referências bibliográficas	52

Índice de figuras

Figura 1: Sistema <i>looping</i> utilizado nos experimentos.	29
Figura 2: Aspecto macroscópico dos corpos-de-prova (A- antes do uso; B – fixado ao engate para aplicação no suporte, C- após a raspagem do biofilme e decapagem).	30
Figura 3: Foto mostrando o cilindro de CO ₂ acoplado ao sistema <i>looping</i> .	31
Figura 4: Aspecto dos meios de cultivo para quantificação dos micro-organismos aeróbios. Aeróbios totais: tubo estéril (A) e tubo positivo (B). Aeróbios produtores de ácido: tubo estéril (C) e tubo positivo (D). Solução salina para diluição (E).	34
Figura 5 – Aspectos dos meios de cultivo para isolamento de micro-organismos anaeróbios. Anaeróbios totais: tubo estéril (A) e tubo positivo (B). Anaeróbias Produtoras de Ácido: tubo estéril (C) e tubo positivo (D). Bactérias Redutoras de Sulfato: tubo estéril (E) e tubo positivo (F). Solução redutora para diluição (G).	35
Figura 6: Análises comparativas do efeito do CO ₂ micro-organismos na fase planctônica nas vazões de 2 L/min. e 4 L/min.	41
Figura 7: Taxa de corrosão em função da injeção de CO ₂	42
Figura 8: Taxas de corrosão dos ensaios realizados em temperaturas distintas.	44
Figura 9: Taxas de corrosão dos testes brancos realizados em temperaturas distintas.	45
Figura 10: Quantificação de micro-organismos: Bactérias Aeróbias Heterotróficas Totais (BAHT), bactérias aeróbias produtoras de ácido (BAPA), bactérias anaeróbias totais (BANT), bactérias anaeróbias produtoras de ácido (BANPA) e BRS, em diferentes tempos, em meio contendo 500ppm de nitrato de sódio. *N° de células/cm ² .	46
Figura 11: Quantificação de micro-organismos: Bactérias Aeróbias Heterotróficas Totais (BAHT), bactérias aeróbias produtoras de ácido (BAPA), bactérias anaeróbias totais (BANT), bactérias anaeróbias produtoras de ácido (BANPA) e BRS, em diferentes tempos, em meio contendo 300ppm de nitrato de sódio. *N° de células/cm ² .	47
Figura 12: Quantificação de micro-organismos: Bactérias Aeróbias Heterotróficas Totais (BAHT), bactérias aeróbias produtoras de ácido (BAPA), bactérias anaeróbias totais (BANT), bactérias anaeróbias produtoras de ácido (BANPA) e BRS, em diferentes tempos, em meio contendo 100ppm de nitrato de sódio. *N° de células/cm ² .	48
Figura 13: Taxas de corrosão em presença de diferentes concentrações de nitrato de sódio.	49

Índice de tabelas

Tabela 1: Classificação da corrosão	27
Tabela 2: Classificação da taxa de corrosão	37
Tabela 3: Análise microbiológica na fase planctônica e séssil para sistema operando sem adição de CO ₂	38
Tabela 4: Análise microbiológica na fase planctônica e séssil sistema operando com vazão de 2 L/min. de CO ₂	39
Tabela 5: Análise microbiológica na fase planctônica e séssil sistema operando com vazão de 4 L/min. de CO ₂	42
Tabela 6: Análise microbiológica na fase planctônica em diferentes temperaturas.	43
Tabela 7: Análise microbiológica na fase séssil em diferentes temperaturas.	44

1 - INTRODUÇÃO

O crescente avanço tecnológico tem imposto as empresas novos desafios de forma a superar a concorrência acirrada. Assim, é fundamental para as empresas obter uma produtividade regulada, sem desperdícios, bem como, garantir a qualidade do produto e a segurança do trabalhador e das populações circunvizinhas. Atualmente é primordial que as empresas, em especial, as de grande porte também se enquadrem nos padrões impostos pela Legislação Ambiental.

A corrosão avança paralelamente ao desenvolvimento tecnológico. Em 2001, o montante de US\$ 137,9 bilhões foi atribuído ao impacto da corrosão nos diversos setores industriais dos Estados Unidos, correspondendo a 3,1% do PIB (KOCH *et al.*, 2001). No Brasil, estima-se que os gastos devidos a corrosão correspondam a 3,5% do PIB, embora para as indústrias mais sujeitas a corrosão, como por exemplo, as dos setores químicos e petroquímicos, o percentual possa ser ainda maior (CÂNDIDO, 2008; HAMSI, 2008). Por isso, as indústrias químicas e petroquímicas têm investido intensivamente na busca de novos materiais mais resistentes e em formas de prevenção e combate à corrosão.

Os micro-organismos estão amplamente distribuídos na natureza, o que possibilita que ocorra sua adesão a superfícies sólidas, quer em ambientes naturais, quer industriais. Em geral, nestes locais, os micro-organismos encontram as condições nutricionais necessárias para o seu desenvolvimento, levando à formação de estruturas denominadas de biofilmes (CHAN *et al.*, 2002). De acordo com o conceito mais moderno, os biofilmes são estruturas heterogêneas complexas, constituídas de agregados de células microbianas inseridas numa matriz polimérica extracelular (SPE), com canais intersticiais por onde ocorre a passagem do fluido circulante (LEWANDOWSKI *et al.*, 1995; VIDELA, 1995). Como consequência, ocorre alteração das condições na interface metal/solução, intensificando o processo de corrosão, denominado de corrosão microbiologicamente induzida (ALMEIDA *et al.*, 2002).

A corrosão microbiologicamente induzida (CMI) figura como um dos principais problemas em sistemas de grande porte, como é o caso dos dutos que

veiculam água, óleo ou gás, por motivos de ordem econômica e ambiental. As perdas econômicas devidas a corrosão podem ser decorrentes de: substituição de peças e equipamentos deteriorados; paralisações acidentais ou interrupções da produção; perdas de produtos por vazamentos; alteração das características de produtos durante transporte, uso ou estocagem; perdas da eficiência de sistemas (calor em trocadores, carga por entupimento de tubulações) (VIDELA, 2002). Por sua vez, o ambiente tem sido cenário de graves desastres ecológicos causados por vazamentos ocorridos pela ruptura de dutos ou de cascos de navios em face do desgaste das suas estruturas metálicas.

Vários fatores podem contribuir para intensificação da CMI. De fato, qualquer condição que favoreça a formação de biofilme, isto é, que estimule a produção e a deposição de SPE e o aumento da densidade populacional sobre superfícies sólidas, podem beneficiar a instalação e a ativação do processo corrosivo.

A temperatura é um fator determinante para o desenvolvimento microbiano, influencia de forma direta a formação de um biofilme, por exemplo, em temperaturas elevadas a impedir o crescimento dos micro-organismos mesófilos por ocasionar a desnaturação das proteínas celulares. Bott e Pinheiro (1977) *apud* Santos *et al.* (2004) demonstraram que os biofilmes formados em temperaturas próximas a 35°C podem apresentar espessura superior a 80% quando em temperaturas mesófilas. Por outro lado, Almeida e de França (1999) evidenciaram células viáveis de micro-organismos termófilos em biofilmes formados em temperaturas de 60°C. É interessante destacar que em reservatórios de petróleo e sistemas de resfriamento, principalmente nos trocadores de calor, as temperaturas podem ser muito elevadas, mas mesmo assim adequadas a atividade dos micro-organismos hipertermófilos.

Outro parâmetro importante na corrosão de metais que se evidencia em indústrias químicas e, principalmente, petroquímicas é a presença de CO₂. Este gás pode ser encontrado tanto em reservatórios de petróleo quanto nos processos tecnológicos de extração e refino, além do mais as indústrias petroquímicas processam gases ricos em CO₂ (ABRANTES *et al.*, 2007). A baixa resistência do aço carbono ao CO₂ torna evidente a necessidade de monitoramento da corrosão, bem como da adoção de medidas para não comprometer a integridade estrutural de equipamentos, dutos, etc. Isto pode ser feito através da substituição do aço carbono por ligas mais resistentes, mas nos casos em

que este procedimento é economicamente inviável, é recomendado o uso de inibidores de corrosão e/ou revestimentos não metálicos (ANDRADE *et al.*, 2007).

O oxigênio é considerado um estimulador do processo corrosivo, uma vez que acelera o processo eletroquímico de corrosão. De fato, a corrosão eletroquímica será tanto mais intensa quanto maior a concentração de oxigênio no meio. Adicionalmente, a concentração de O₂ dissolvido é um dos principais fatores para aderência e a permanência dos micro-organismos em superfícies metálicas, uma vez que a maior síntese de SPE ocorre em condição de aerobiose. Segundo diversos autores, o SPE exerce um importante papel no processo de adesão celular (BEECH e GAYLARDE, 1989; FLEMMING *et al.*, 1998). Tem-se ainda que as proteínas e os carboidratos que compõem estes exopolímeros podem se ligar a íons metálicos, através de seus grupos funcionais, podendo intensificar ainda mais o processo corrosivo (BEECH, 2004).

Em um mesmo biofilme podem coexistir diversas espécies de grupos microbianos diferentes, como bactérias, fungos, protozoários e algas, embora as bactérias sejam os principais micro-organismos envolvidos na formação do biofilme. A atividade dos micro-organismos aeróbicos existentes no biofilme, assim como a espessura do biofilme, cria um gradiente de aeração através das várias camadas de sua estrutura. Assim, formam-se condições adequadas para o desenvolvimento de micro-organismos anaeróbicos, como as bactérias redutoras de sulfato (BRS) que utilizam sulfato como acceptor final de elétrons (CRAVO Jr *et al.*, 2002; CASTANEDA e BENETTON, 2008).

A atividade sem controle das BRS pode gerar diversos riscos à saúde humana e ambiental como também problemas operacionais, incluindo a corrosão e formação de sulfeto de hidrogênio. Esses problemas se tornam mais críticos em plataformas *offshore*, navios-plataforma e tanques de navio. Nestes sistemas, o crescimento de BRS descontrolado é evitado através do uso de biocidas (PENNA *et al.*, 2007).

A maioria dos biocidas convencionais apresenta custo elevado e alta toxicidade. Frente aos biocidas convencionais, o nitrato é considerado de baixa toxicidade, de manuseio seguro e ambientalmente correto, por ser biodegradável e não sofrer bioacumulação nos organismos (PENNA *et al.*, 2006).

Considerando que os agentes anteriormente mencionados são corrosivos para metais, em especial aço carbono e, portanto, são passíveis de causar, direta ou indiretamente, grandes perdas econômicas e danos ao ambiente e à saúde dos seres vivos, é indispensável o desenvolvimento de estudos detalhados visando minimizar os custos e maximizar os lucros.

2 - OBJETIVOS

2.1 – OBJETIVO GERAL

Avaliar a formação de biofilmes e a corrosão do aço carbono AISI 1018 simulando as condições normalmente existentes nos sistemas industriais, em modo dinâmico, visando definir a necessidade de estabelecer estratégias de precaução e formas de tratamento da corrosão para evitar a corrosão do metal e danos maiores.

2.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar e comparar as populações bacterianas de importância para a corrosão microbiologicamente induzida, nas fases planctônicas e sésseis;
- Determinar o efeito do CO₂ como agente de corrosão;
- Avaliar o desenvolvimento do biofilme e da CMI em diferentes temperaturas;
- Monitorar a influência do nitrato de sódio como biocida na formação do biofilme.

3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 – Corrosão

A corrosão pode ser definida como um processo espontâneo de deterioração de um material, normalmente metálico, por ação química ou eletroquímica do meio ambiente associada ou não a esforços mecânicos (GENTIL, 1996).

Na maioria das vezes, a corrosão dos materiais em meios aquosos se caracteriza por um processo essencialmente eletroquímico, que engloba duas reações: uma de oxidação, que ocorre na região anódica, e outra de redução na região catódica. As duas reações ocorrem simultaneamente graças ao deslocamento dos elétrons, que são gerados pela reação anódica, através do metal da região em que ocorre a dissolução do metal (região anódica) para a região em que ocorre a redução do oxigênio (região catódica).

3.1.1 – Classificação da corrosão

O processo de corrosão é classificado de diversas formas de acordo com a forma ou o processo de origem. A Tabela 1 apresenta os principais tipos e respectivos exemplos de acordo com Torres (2001).

Tabela 1: Classificação da corrosão e exemplos

Tipo	Exemplos
Morfologia	uniforme, por placas, alveolar, puntiformes, ou por pites, intergranular, intragranular, filiforme, por esfoliação, gráfitica, dezincificação, em torno de cordão de solda e empolamento pelo hidrogênio.
Causas ou mecanismos	por aeração diferencial, eletrolíticas ou por correntes de fuga, galvânica, associada a solicitações mecânicas, em torno do cordão de solda, seletiva, empolamento ou fragilização pelo hidrogênio.

Fatores mecânicos	sob tensão, sob fadiga, por atrito, associados à erosão.
Meio corrosivo	atmosférica, pelo solo, induzido por micro-organismos, pela água do mar, por sais fundidos, etc.
Localização do ataque	por pite, uniforme, intergranular, transgranular, etc

Fonte: Torres (2001).

3.2 – Corrosão Microbiologicamente Induzida (CMI)

Quando a corrosão de um material sofre influência da atividade microbiana é denominada de Corrosão Microbiologicamente Induzida. A CMI é também um processo de natureza eletroquímica, envolvendo uma região anódica, onde se desenvolve um processo de oxidação que leva a dissolução do metal, e simultaneamente a redução de algum componente do meio através da reação catódica. Os micro-organismos participam do processo corrosivo acelerando-o, sem alterar a sua natureza eletroquímica (VIDELA, 2002).

Os micro-organismos desempenham um importante papel na deterioração dos materiais, especialmente em ambientes aquáticos. A presença dos micro-organismos sobre superfícies metálicas causa diversas alterações localizadas na interface metal-solução, tais como concentração de eletrólitos, pH e teor de oxigênio (ISMAIL *et al.*, 1999).

A biodeterioração de superfícies metálicas é normalmente acompanhada pelo desenvolvimento microbiano que leva à formação de estruturas complexas denominadas biofilmes. Os biofilmes agem sobre superfícies e processos interfaciais resultando na contaminação dos ambientes, na redução da capacidade de transferência de calor e na redução da eficiência de equipamentos (; SRINIVASAN *et al.* 1995; TELEGDI *et al.*, 2000).

3.2.1 – Biofilmes

A água serve como uma via de transporte de substâncias químicas orgânicas e inorgânicas além de micro-organismos como, por exemplo, bactérias, fungos e microalgas, entre outras (FRANÇA *et al.*, 2009). Por isso, quando um material, metálico ou não, entra em contato com a água, possibilita que substâncias por ela transportadas venham a aderir à superfície sólida, com formação de camadas ricas em nutrientes. Como consequência, os micro-organismos que estão no estágio planctônico (livres no líquido), ao aderir à superfície se desenvolvem, propiciando a formação de biofilmes, onde se encontram no estágio sésil.

Os biofilmes, de acordo com o conceito mais moderno, podem ser definidos como estruturas complexas constituídas de agregados de células microbianas inseridas numa matriz exopolimérica, onde existem canais intersticiais que permitem a passagem do fluido circulante (LEWANDOWSKI, STOODLEY e ROE, 1995). Segundo Al-Ahmad *et al.* (2000) e Srivastava (1998), o biofilme é uma formação espontânea e indesejável de depósito, que inicia no instante em que uma superfície é posta em contato com um líquido. Nesse momento, ocorre adsorção de moléculas orgânicas e inorgânicas na superfície deste material, criando um meio condicionante. Em seguida acontece a fixação dos micro-organismos a este meio rico em nutrientes, o crescimento celular e a produção de exopolímeros ou Substâncias Poliméricas Extracelulares (SPE).

Logo, os biofilmes são constituídos por um gel formado por polímeros extracelulares insolúveis principalmente polissacarídeos (SPE), contendo ao redor de 95% de água, células microbianas, e compostos inorgânicos (VIERA *et al.*, 1999). O'Toole *et al.* (2008) definiram biofilme simplesmente como comunidades de micro-organismos que atacam a superfície, sendo as bactérias predominantes quando se trata de sistemas aquáticos naturais. Os biofilmes podem compreender espécies microbianas únicas ou múltiplas.

Os SPE atuam principalmente na fixação dos micro-organismos, porém também agem como protetores dos micro-organismos contra compostos químicos, como, por exemplo, biocidas, já que funcionam como uma barreira à difusão de substâncias do meio aquático para o interior do biofilme, conferindo-lhes uma maior resistência (COSTERTON *et al.*, 1995).

Os mais variados tipos de materiais, metais ou não, estão sujeitos à deterioração, que é normalmente acompanhada pela formação de biofilmes. A deposição de produtos de corrosão juntamente com o consumo de oxigênio pelos micro-organismos aeróbios presentes no biofilme levam a formação de um processo de corrosão por aeração diferencial.

Nos biofilmes co-existem populações microbianas metabolicamente diferenciadas. Por exemplo, a espessura e a complexidade da estrutura do biofilme criam um gradiente de aeração gerando condições adequadas ao desenvolvimento de micro-organismos anaeróbios, como as bactérias redutoras de sulfato (COSTERTON *et al.*, 1995). Assim, na parte mais externa do biofilme é maior a tendência de se desenvolverem micro-organismos aeróbios, enquanto na parte mais interna micro-organismos anaeróbios (GENTIL, 1996).

3.2.2 – Mecanismos de formação e desenvolvimento de biofilmes

Estudos indicam que o ciclo biológico de desenvolvimento do biofilme apresenta estabilidade e inclui: iniciação, maturação, manutenção e desprendimento. Este ciclo pode ter início a partir de uma única célula planctônica, que pode interagir com a superfície ou com outra célula, resultando na formação de micro-colônias (VAN LOOSDRECHT *et al.*, 1990; O'TOOLE *et al.*, 2008).

Os biofilmes são formados a partir do contato dos micro-organismos com a superfície do material através de: (i) movimento browniano; (ii) movimento convectivo devido ao fluxo líquido; ou (iii) movimento das células móveis, que podem alcançar a superfície ao acaso ou em resposta quimiotática a um gradiente de concentração de nutrientes.

A seguir, ocorre à adesão inicial, que nem sempre se dá por ligação irreversível entre os micro-organismos e a superfície. A adesão pode ser do tipo reversível, quando a célula ainda está sujeita ao movimento browniano; neste caso, podendo ser facilmente removida.

Posteriormente à adesão ocorre a fixação dos micro-organismos planctônicos à superfície, que passam para a fase sésil. O biofilme pode ser formado pelo desenvolvimento dos micro-organismos sésseis, e da síntese e excreção de exopolímeros, que podem mediar a fixação de novas células microbianas. Os SPE envolvem e aglutinam as células microbianas protegendo-as contra as condições adversas do meio ambiente.

Terminada a etapa de fixação e ainda existindo nutrientes, há a colonização da superfície, isto é, o crescimento celular. Os biofilmes continuam se desenvolvendo, no entanto, quando ocorre supressão de nutrientes, os micro-organismos podem se destacar do biofilme e retornar ao estado planctônico (O'TOOLE *et al.*, 2008). O desprendimento pode ocorrer de forma aleatória e depende da atividade dos micro-organismos aderidos ao suporte sólido.

Com o crescimento do biofilme, a difusão de oxigênio e de nutrientes para o interior do biofilme é dificultada criando condições não favoráveis para alguns tipos de micro-organismos nele existentes, podendo ocorrer à morte de espécies microbianas sésseis e, conseqüentemente, o enfraquecimento da matriz polimérica, seguido do desprendimento parcial ou total do biofilme da superfície o que por sua vez irá ocasionar o enriquecimento populacional na fase planctônica (GENTIL, 1996).

O surgimento dos biofilmes depende das condições que tornem o meio propício a fixação e ao crescimento dos micro-organismos. Dentre as condições se destacam: a temperatura, a velocidade do fluido e o teor de oxigênio dissolvido (GENTIL, 1996).

O desenvolvimento dos biofilmes é favorecido em temperaturas de mesofilia, entre 30 e 40°C, tendo sido demonstrado que o nesta faixa temperatura promove o aumento da espessura do biofilme em cerca de 80% (BOTT e PINHEIRO, 1977 *apud* SANTOS *et al.*, 2004). No entanto, em temperaturas mais elevadas, isto é, acima de 60°C, também é observado o desenvolvimento de micro-organismos, são os chamados termófilos (LUTTERBACH e FRANÇA, 1996).

A velocidade do fluxo influencia as características físicas dos biofilmes formados, uma vez que velocidades baixas propiciam a formação de biofilmes mais

volumosos, pouco densos e facilmente destacáveis, enquanto que velocidades altas levam ao desenvolvimento de biofilmes mais densos, menos volumosos e com maior resistência ao destacamento (PERCIVAL *et al.*, 1998).

A redução do teor de oxigênio dissolvido da superfície do biofilme até sua base indica o seu consumo por atividade microbiana, sendo atingidos índices de quase total anaerobiose na base de biofilmes com espessura de apenas 100 µm (COSTERTON *et al.*, 1994).

3.2.3 – Micro-organismos que participam da CMI

Os biofilmes podem incluir comunidades heterogêneas de bactérias, fungos, algas e protozoários. Essas populações celulares apresentam interdependência funcional, e coletivamente favorecem atividades microbianas que não seriam possíveis de ocorrer por apenas uma das espécies individualmente componente do biofilme (GILBERT, McBAIN e RICKARD, 2003).

Nos sistemas aquáticos, tanto os micro-organismos aeróbios quanto os anaeróbios deterioram os metais. Os micro-organismos de destaque no processo de corrosão são os que intensificam o fenômeno pela excreção de metabólitos agressivos e pela formação de filmes celulares como barreira a difusão (TELEGDI, SHABAN e KÁLMÁN, 2000). Em geral, a aceleração da corrosão do aço carbono na água é associada à atividade das bactérias redutoras de sulfato (BRS) e das bactérias produtoras de ácidos (STAROSVETSKY *et al.*, 2001).

As bactérias aeróbias favorecem a atividade metabólica das bactérias redutoras de sulfato ao reduzirem o potencial redox, quer pelo consumo de O₂, quer pela excreção de SPE (BEECH e GAYLARDE, 1989) e ao fornecerem ácidos orgânicos e hidrogênio molecular, sendo por isso considerada precursoras das BRS (POTEKHINA *et al.*, 1999). As bactérias aeróbias também têm importância vital na formação de biofilmes pela produção de SPE que promove a fixação dos micro-organismos às superfícies e, cuja degradação permite o desenvolvimento dos micro-organismos sésseis quando condições de escassez nutricional.

3.2.3.1 – Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS)

As maiores taxas de biocorrosão são identificadas em condições de anaerobiose, sob biofilmes densos em estruturas enterradas em solos. Os microorganismos mais importantes nesses ambientes são as BRS (FANG, XU e CHAN, 2002).

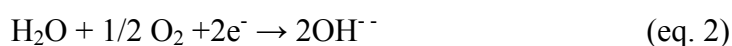
As BRS podem ser facilmente encontradas em biofilmes desenvolvidos na superfície de cascos de navios, trocadores de calor e dutos de água residual, resultando na biocorrosão dos materiais utilizados na sua construção, e que por isso ganham destaque em diversos estudos nas áreas de Microbiologia, Engenharia e Ciência dos Materiais (FANG, XU e CHAN, 2002).

Algumas espécies de BRS, quando na fase séssil, também são capazes de produzir SPE, promovendo a aderência de sedimentos, novas células e o seu desenvolvimento em diferentes ambientes (FANG, XU e CHAN, 2002).

3.3 - Fatores que interferem na CMI

Os principais fatores que influenciam a taxa de corrosão são os gases dissolvidos, temperatura, salinidade e o pH. Dentre esses, do ponto de vista da corrosão, os gases dissolvidos seriam os destaques (TORRES, 2001).

No caso de aeração natural, o oxigênio pode exercer ação corrosiva, com redução do oxigênio no catodo e oxidação do metal no anodo como mostrado nas equações 1 e 2.



Contudo, o oxigênio também pode exercer uma ação passivante pela formação de películas protetoras de óxidos (TiO_2 , Cr_2O_3) aderentes, como no caso dos aços inoxidáveis.

No caso do gás carbônico, se evidenciará sempre seu aspecto corrosivo. A solubilidade do CO_2 em água leva a formação de ácido carbônico, causando um decréscimo do pH, e assim aumentando a ação corrosiva da água (TORRES, 2001). Na presença de carbonato de cálcio, o gás leva a sua dissolução pela formação de bicarbonato de cálcio (equação 3), acelerando o processo corrosivo, enquanto que a deposição de carbonato, um sal insolúvel, sobre superfícies metálicas poderia agir como uma camada passivante.



A corrosão provocada por CO_2 é responsável por grandes perdas econômicas na indústria de exploração de petróleo. Este gás pode ser encontrado tanto na composição de jazidas de petróleo e gás, quanto nos processos tecnológicos de extração e refino, além das indústrias petroquímicas que processam gases ricos em CO_2 .

Como a maximização da extração do petróleo de reservatórios depende da injeção de fluidos onde o CO_2 surge como uma opção quando não se dispõe de manancial hídrico (THOMAS, 2001). Soma-se a baixa resistência do aço carbono ao CO_2 , o que torna mais evidente a necessidade de monitorar a corrosão das estruturas ao longo do tempo (ABRANTES *et al.*, 2007).

3.4 – Métodos de controle da CMI

Devido ao grande destaque e importância, a corrosão microbiologicamente induzida derivou muitos estudos de controle, entre eles se destacam: a utilização de água deficiente em nutrientes, com o objetivo de limitar o crescimento de microorganismos; o uso de metais resistentes a este tipo de corrosão; o ajuste do pH do meio

com a finalidade de inibir o crescimento de micro-organismos responsáveis pela corrosão, como as BRS; a utilização de mecanismos de proteção catódica para os metais; o uso de meios com baixa condutividade; a adição de biocidas na água; entre outros (JAIN, 1995; SUNNY-CHEUNG e BEECH, 1996; JOHANSEN *et al.*, 1997; JAYARAMEN *et al.*, 1999).

3.4.1 – Biocidas

Os biocidas são compostos simples ou misturas de compostos capazes de eliminar micro-organismos. Os biocidas podem ser classificados como oxidantes e não oxidantes. Por atuarem em alvos intracelulares específicos, os não oxidantes apresentam maior toxicidade comparativamente aos oxidantes, cuja ação se dá indiscriminadamente em qualquer tipo de matéria orgânica (VIDELA, 2002)

Em geral, para controlar os grupos microbianos em sistemas com elevada carga de matéria orgânica utilizam-se os biocidas não oxidantes. Como representantes dessa classe de biocidas, tem-se: aldeídos, composto do tipo amina, sais quaternários fosfônio, quaternários de amônia e isotiazolonas (LUDENSKY, 1998).

Exemplos de biocidas oxidantes são: cloro, bromo, cloramina, ozônio, dióxido de cloro, entre outros. Este grupo é geralmente usado em sistemas de água doce e sua atividade é dependente do pH, da luz e da temperatura; no entanto, não são eficientes contra biofilmes bacterianos (JAYARAMAN *et al.*, 1999).

Atualmente, para o controle da corrosão microbiológica buscam-se biocidas que apresentem qualidades superiores aos convencionais, dado o custo elevado e a alta toxicidade tanto para o meio ambiente quanto para os operadores (PENNA *et al.*, 2007).

3.4.2 – Utilização de nitrato de sódio em plataformas *offshore* no controle das BRS

É considerável o aumento, em nível mundial, do emprego de navios FSO (*Floating, Storage and Offloading*), uma base flutuante de armazenamento de produtos petrolíferos com capacidade de separar o petróleo recebido das plataformas marítimas e

realizar sua posterior transferência para o processamento do óleo (ANDRADE *et al.*, 2007).

Os navios FSO contêm múltiplos tanques com as funções de: separação de óleo da água; armazenar para posterior transferência do óleo para outro navio; processar água para descarte, mas que antes segue para os tanques do tipo *slopes*. Nestes tanques, a mistura de água e rejeitos oleosos torna o ambiente favorável à atividade microbiana, principalmente para as BRS. Assim estes locais são propícios a geração de altos teores de H₂S, pois além da água produzida carrear BRS, baixa velocidade (elevado tempo de residência), atmosfera redutora, temperatura apropriada, presença de borra e depósito sólido, presença de sulfato, nutrientes como ácidos orgânicos voláteis, nitrogênio e fósforo, salinidade e pH nas condições favoráveis a atividade das BRS (ANDRADE *et al.*, 2007).

Atualmente, o controle da geração de H₂S nos tanques das plataformas pode ser feito com biocidas a base de sulfato de tetraquishidroximetil fosfônio (THPS) misturado a sais quaternários de amônia e também a um bioestático, a antraquinona (PENNA *et al.*, 2007).

Por outro lado, a injeção de nitrato surge como uma boa opção a ser investigada, posto que os sais de nitrato frente aos biocidas convencionais são menos tóxico, mais seguro de manusear e considerado ambientalmente correto. Além disso, o nitrato é biodegradável e não sofre bioacumulação nos organismos, apesar de apresentar como desvantagem, a possibilidade do nitrato acelerar a corrosão do aço por provocar a oxidação do Fe⁰ a Fe⁺² em meios neutros (PENNA *et al.*, 2007).

Com a aplicação de nitrato, o crescimento das bactérias redutoras de nitrato (BRN) é estimulado. Algumas destas bactérias utilizam o nitrato como acceptor final de elétrons reduzindo-o a nitrito, que promove a oxidação do H₂S a enxofre elementar ou a sulfato, o que tende a gerar um ambiente oxidante, desfavorável às BRS e favorável a corrosão (ANDRADE *et al.*, 2004).

O nitrato também pode servir de acceptor de elétrons para algumas espécies de BRS. Quando o nitrato está disponível e os dois grupos microbianos estão presentes, se estabelece uma competição baseada nas condições redox e na termodinâmica.

Termodinamicamente, a redução do nitrato a nitrogênio ou amônia fornece mais Energia Livre de Gibbs do que a redução de sulfato para um determinado doador de elétrons. Na presença de nitrato, as BRN competem com as BRS por doadores de elétrons e suprem a atividade metabólica deste último grupo de micro-organismos. Além do mais, com o aumento do potencial redox do ambiente, devido à redução do nitrato, as BRS são inibidas. O mecanismo descrito acima é conhecido como exclusão biocompetitiva (PENNA *et al.*, 2007).

4 – MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 – Corpos-de-prova

Nos experimentos, foram utilizados corpos-de-prova de aço carbono AISI 1018, na forma cilíndrica e área total de 8,1053 cm².

Antes do início de cada experimento, os corpos-de-prova foram tratados (item 4.5.2), a fim de remover incrustações e resíduos de matéria orgânica, por ventura aderidos sobre as superfícies dos metais. Logo após, os corpos-de-prova foram embalados um a um em papel de filtro e acondicionados em dessecador até o momento de uso, de modo a garantir atmosfera isenta de umidade durante o período de estocagem.

4.2 – Fluido de processo

Foi utilizado como fluido de processo água do mar coletada na Praia do Galeão, localizada na Ilha do Governador – Rio de Janeiro. As coletas foram realizadas sempre no mesmo local e com maré baixa, durante período de estiagem.

O fluido de processo foi utilizado na sua forma *in natura*, sem qualquer tratamento prévio, com o objetivo de preservar suas características microbiológicas o máximo possível.

4.3 – Sistema *looping* para a condução de experimentos

O estudo foi conduzido em sistema *looping* modelo PS (Biofilm Technology) de 5 L de capacidade (Figura 1). O sistema dispõe de controlador de temperatura e vazão (1), cinco suportes acrílicos (2), uma entrada para adição do fluido de processo (3) e uma saída (4) para retirada do mesmo.

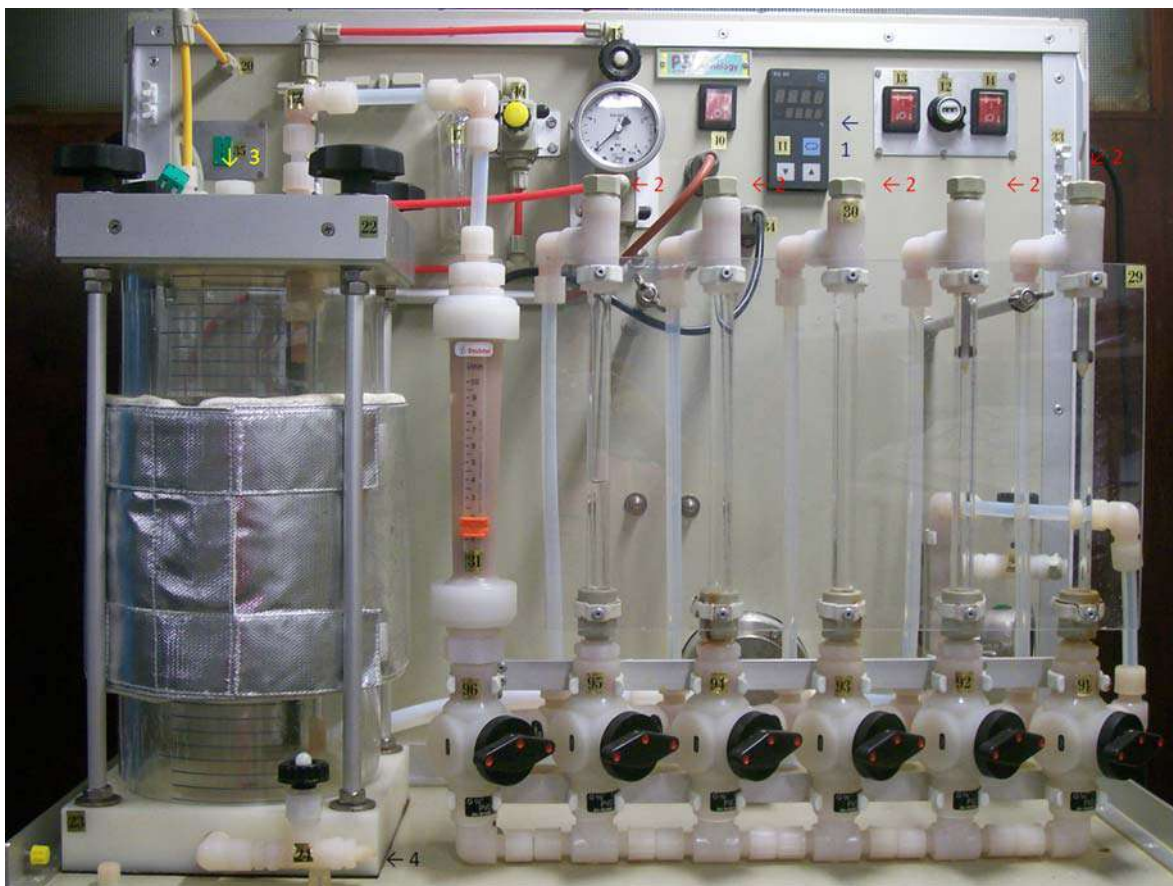


Figura 1: Sistema *looping* utilizado nos experimentos.

Os cupons metálicos foram acoplados a suportes acrílicos transparentes e então o conjunto foi fixado de forma a permanecerem totalmente imersos e paralelos a passagem do fluido ao longo do período experimental, de 15 dias (Figura 2). Os tubos de acrílico do sistema permitiram a visualização dos corpos-de-prova já fixados ao sistema durante o período de monitoramento.

A circulação da água foi feita na vazão de 3 L/min., correspondendo a um regime de escoamento laminar. A temperatura foi mantida em 30°C, exceto para os experimentos relacionados à temperatura (item 4.4.2, temperaturas de 47°C, 60°C e 70°C).

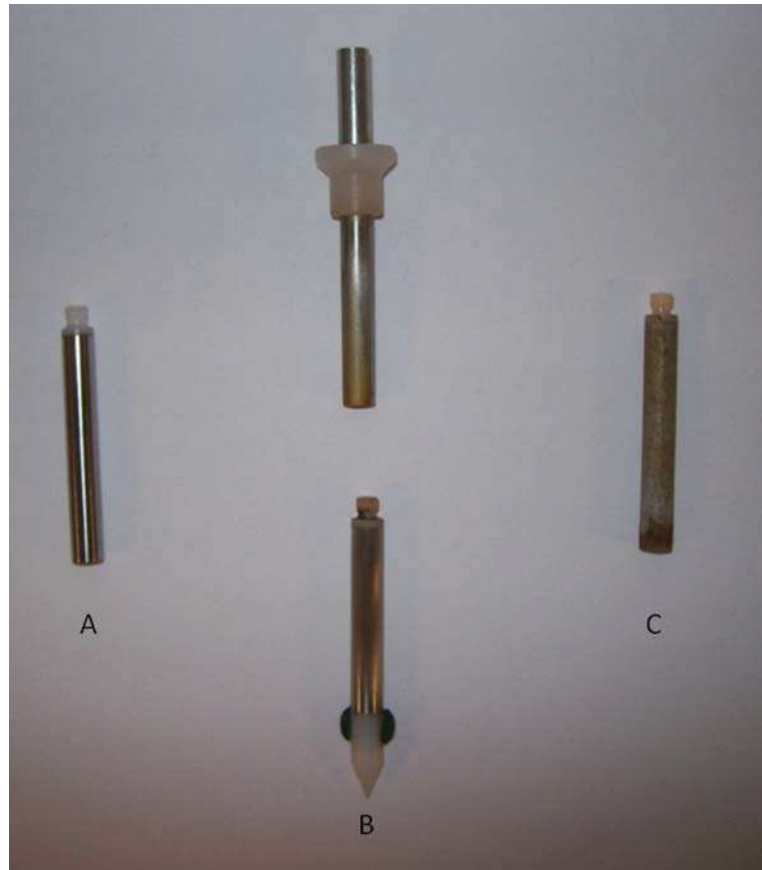


Figura 2: Aspecto macroscópico dos corpos-de-prova (A- antes do uso; B – fixado ao engate para aplicação no suporte, C- após a raspagem do biofilme e decapagem).

4.4 – Ensaios de biocorrosão

Foram conduzidos três diferentes experimentos, de modo a simular as condições normais de operação em sistemas industriais. A seguir, a descrição detalhada das condições de realização de cada uma das etapas.

4.4.1 – Experimento 1: Influência do dióxido de carbono na formação de biofilmes e na corrosão do aço carbono AISI 1018

Foram realizados dois ensaios nas vazões de CO₂ de 2 L/min. e 4 L/min. durante 30 minutos. Para fins comparativos, também foram realizados:

- ensaio controle - na ausência de CO₂;

- teste em branco - através da adição de azida de sódio na de 1% (m/v) ao fluido circulante, e com injeção de CO₂ na vazão de 2 L/min. por 30 min.

Para os ensaios, ao sistema *looping* foi acoplado um cilindro contendo 99,9% de CO₂ em fase líquida (White Martins, PGFG-86-C) como mostrado na Figura 3.



Figura 3: Foto mostrando o cilindro de CO₂ acoplado ao sistema *looping*.

A influência do CO₂ na formação de biofilmes foi avaliada através da quantificação de diferentes populações microbianas nas fases planctônicas e sésil, antes e decorridos 15 dias de processo.

A avaliação da corrosão por CO₂ foi feita pelo cálculo da taxa de corrosão a partir dos resultados de perda de massa dos corpos-de-prova antes e decorridos 15 dias de processo.

4.4.2 – Experimento 2: Influência da temperatura na formação de biofilmes e na corrosão do aço carbono AISI 1018

Foram avaliadas as formações de biofilmes em diferentes temperaturas: 30°C, 47°C, 60°C e 70°C. Para cada temperatura foram processados corpos-de-prova de aço carbono 1018, em duplicata. No 15º dia foram realizadas as estimativas do NMP dos micro-organismos planctônicos e sésseis e a determinação da perda em massa e cálculo da taxa de corrosão. Para a quantificação da população microbiana foi feita a incubação na estufa modelo Eelconap-Electric Heat Control Apparatus, em suas respectivas temperaturas (30°C, 47°C, 60°C e 70°C).

4.4.3 – Experimento 3: Monitoramento da aplicação de nitrato de sódio como biocida.

Para a realização deste experimento, a água do mar foi enriquecida com BRS planctônicas a fim de avaliar a influência da adição de nitrato como agente biocida na formação de biofilme e na biocorrosão em período curto, de apenas 15 dias. Para tanto, foi utilizado como inóculo um consórcio de BRS, preparado a partir do crescimento em meio Postgate E modificado (POSTGATE, 1984; BARTON; TOMEI 1995).

Os meios de culturas foram obtidos através de amostras de água proveniente do monitoramento de dutos, feito pelo Laboratório de Microbiologia do Petróleo da Escola de Química da UFRJ, sob coordenação da Prof.^a Francisca Pessôa de França.

A cada início de ensaio, um volume de 30 mL do consórcio, cultivado durante sete dias, foi adicionado a 5 L de água do mar já no sistema. Os micro-organismos contidos no fluido de processo foram quantificados antes da adição do nitrato e da adição do consórcio, sendo considerado este momento como tempo zero das análises.

As concentrações de nitrato de sódio utilizadas foram de 100, 300 e 500 ppm, com o monitoramento em três tempos distintos, que foram distinguidos para cada experimento, nas suas respectivas concentrações, além de t=0. Os experimentos tiveram duração de 360 horas, exceto para o experimento de 500 ppm que teve o tempo de 288 horas.

Para cada condição foi avaliada a ação do nitrato na atividade microbiana e na corrosão dos corpos-de-prova.

4.5 – Determinações quantitativas

4.5.1 – Micro-organismos

Ao final dos experimentos, cada corpo-de-prova, logo após a retirada do *looping*, foi rinsado com solução redutora estéril para o arraste dos micro-organismos presentes no fluido de processo aderido ao metal. O corpo-de-prova foi então disposto em recipiente contendo 30 mL de solução redutora estéril (0,1 g/L de ácido ascórbico, 0,124g /L de tioglicolato de sódio, e 4,0 mL de resarzurina 0,025%), sendo toda a sua área assepticamente raspada, com auxílio de espátula estéril, para a remoção total dos biofilmes formados sobre a superfície.

As estimativas das populações de bactérias: aeróbias totais, aeróbias produtoras de ácido, anaeróbias totais, anaeróbias produtoras de ácido e BRS foram realizadas pelo método do Número Mais Provável (NMP) em série de três tubos (OBLINGER & KOLBURGUER, 1975). Para tanto, a suspensão celular obtida a partir da raspagem do corpo-de-prova foi convenientemente diluída, através de diluições decimais sucessivas em solução redutora ou solução fisiológica, respectivamente para quantificação de bactérias anaeróbias e aeróbias, e uma alíquota de 1 mL de cada diluição semeada em três frascos contendo 9 mL de meio apropriado para o cultivo das populações microbianas a serem quantificadas.

Todos os meios de cultivo e solução redutora tiveram as concentrações de NaCl corrigidas para 30 g/L, com o propósito de estabelecer a mesma salinidade da água do mar, e deste modo evitar alterações que poderiam ser devidas a diferença de salinidade.

A seguir, a indicação dos meios utilizados para a quantificação das diferentes populações bacterianas, condições de incubação e forma de observação do crescimento:

- Aeróbias totais: caldo nutriente (peptona de carne 5,0 g/L, extrato de carne 3,0 g/L e sacarose 20,0 g/L, pH = 7,0). O resultado positivo foi observado com a turvação do meio após incubação por 48 horas (Figura 4).
- Aeróbias produtoras de ácido: caldo vermelho de fenol (peptona de caseína 5,0 g/L, peptona de carne 5,0 g/L, vermelho de fenol 0,018 g/L, pH =7,4). O resultado positivo foi indicado por mudança de coloração de vermelho para amarelo após incubação por 48 horas (Figura 4).

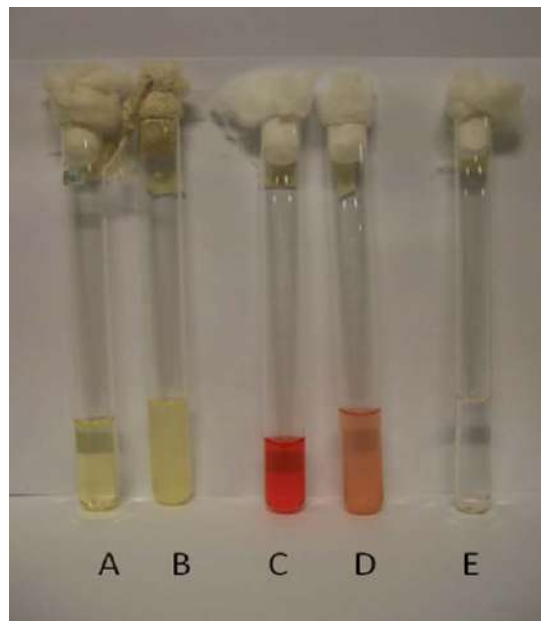


Figura 4: Aspecto dos meios de cultivo para quantificação dos micro-organismos aeróbios. Aeróbios totais: tubo estéril (A) e tubo positivo (B). Aeróbios produtores de ácido: tubo estéril (C) e tubo positivo (D). Solução salina para diluição (E).

A quantificação das bactérias anaeróbias se deu em meio líquido, devidamente purgado com nitrogênio, e dispensado em frascos de penicilina de 10 mL de capacidade (Figura 5). O período de incubação foi de 14 dias para anaeróbios totais e anaeróbios produtores de ácido e de 28 dias para BRS. Os meios utilizados e as formas de visualização dos crescimentos foram:

- Anaeróbios totais: caldo PETROBRAS (5,0 g/L glicose, 4,0 g/L peptona universal, 1,0 g/L extrato de levedura, 4,0 mL resazurina 0,025%, pH = 7,6). O resultado positivo foi indicado com turvação do meio e mudança de cor para amarelo (Figura 5).
- Anaeróbios produtores de ácido: caldo vermelho de fenol e pH = 7,4. O resultado positivo foi indicado por mudança de coloração de vermelho para amarelo (Figura 5).
- BRS : caldo Postgate E modificado (KH_2PO_4 5,0 g/L, NH_4Cl 1,0 g/L, Na_2SO_4 1,0 g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,67 g/L, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1,68 g/L, extrato de levedura 7,0 g/L, lactato de sódio 1,0 g/L, ácido ascórbico 0,1 g/L, agar 1,9 g/L, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g/L, resazurina 0,025% 4,0 mL, pH= 7,6). O resultado positivo foi observado com o enegrecimento do meio devido a formação do precipitado de sulfeto de ferro (Figura 5).



Figura 5 – Aspectos dos meios de cultivo para isolamento de micro-organismos anaeróbios. Anaeróbios totais: tubo estéril (A) e tubo positivo (B). Anaeróbios Produtoras de Ácido: tubo estéril (C) e tubo positivo (D). Bactérias Redutoras de Sulfato: tubo estéril (E) e tubo positivo (F). Solução redutora para diluição (G).

4.5.2 – Taxa de corrosão

A determinação da perda de massa dos corpos-de-prova foi realizada utilizando a técnica descrita por Torres (2001). Com este fim, os corpos-de-prova antes do uso foram imersos em um recipiente contendo uma solução de ácido clorídrico a 26% durante 5 segundos e, posteriormente, foram submetidos a uma lavagem em água corrente. Em seguida esses corpos-de-prova foram neutralizados por imersão em solução de 10% hidróxido de sódio durante 5 segundos e novamente lavados em água corrente. A seguir sofreram uma nova imersão em álcool isopropílico durante 5 segundos e em benzeno por mais 5 segundos, visando à remoção de gordura e outras matérias orgânicas. Ao final desse tratamento os corpos-de-prova (Figura 2A) foram colocados em um dessecador e ali deixados por 24 horas quando foram pesados ao décimo de miligrama a fim de averiguar o peso inicial. Em sequência, o corpo-de-prova foi colocado no engate (Figura 2B), este era introduzido ao suporte, ao final de cada experimento os corpos-de-prova foram raspados para remoção do biofilme e antes da pesagem para determinação da perda em massa (Figura 2C), os mesmos foram tratados como acima descrito.

O calculo da taxa de corrosão foi feito baseado na equação 4:

$$\text{Taxa de corrosão} = (P_i - P_f) / A * t * D \quad (\text{eq. 4})$$

Onde: P_i = peso inicial;
 P_f = peso final;
 A = Área do corpo de prova (mm^2);
 t = ano;
 D = densidade do carbono ($0.00786\text{g}/\text{mm}^3$).

A Tabela 2 apresenta a classificação da taxa de corrosão quanto ao seu grau de intensidade (Norma NACE RP-07-75).

Tabela 2: Classificação da taxa de corrosão

Taxas de corrosão (mm/ano)	Classificação
Maior que 0,125	Severa
Entre 0,025 e 0,125	Moderada
Menor que 0,025	Baixa

5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 – Influência do dióxido de carbono na formação de biofilmes e na corrosão do aço carbono AISI 1018.

A Tabela 3 apresenta os resultados referentes às concentrações de micro-organismos na fase planctônica, antes e ao final de 15 dias, e na fase sésil. Pode-se observar decréscimo do número de todas as populações de bactérias analisadas, o que sugere ter ocorrido uma condição limitante nutricional. E, apesar de ter sido verificada a presença de bactérias aeróbias na fase planctônica, estranhamente não foi detectado o desenvolvimento de bactérias aeróbias na superfície metálica. No entanto, houve o estabelecimento de bactérias anaeróbias na fase sésil, mostrando a capacidade destes micro-organismos de produzir SPE em quantidade suficiente para sua fixação e para criar um ambiente anaeróbio favorável para o seu desenvolvimento.

Tabela 3: Análise microbiológica na fase planctônica e sésil para sistema operado com água do mar sem adição de CO₂

Micro-organismos	Concentração de células planctônicas (NMP/mL)		Concentração de células sésseis (NMP/cm ²)
	Inicial	15 dias	15 dias
BAHT	45 x 10 ²	45 x 10	0
BAPA	45 x 10 ²	95	0
BANT	20 x 10 ⁴	15 x 10 ³	45 x 10 ³
BANPA	11 x 10 ⁴	95	45
BRS	7,0	0	25

Bactérias Aeróbias Heterotróficas Totais (BAHT); Bactérias aeróbias produtoras de ácido (BAPA); Bactérias anaeróbias totais (BANT); Bactérias anaeróbias produtoras de ácido (BANPA); Bactérias redutoras de sulfato (BRS).

As Tabelas 4 e 5 apresentam os valores das análises nos sistemas operados com água do mar e injeção de CO₂ nas vazões de 2 e 4 L/min., respectivamente.

Tabela 4: Análise microbiológica na fase planctônica e sésil para sistema operado com água do mar e injeção de CO₂ na vazão de 2 L/min.

Micro-organismos	Concentração de células planctônicas (NMP/mL)		Concentração de células sésseis (NMP/cm ²)
	Inicial	15 dias	Inicial
BAHT	11 x 10 ⁵	20 x 10 ⁵	45 x 10 ³
BAPA	4 x 10 ³	25 x 10 ⁴	4,0
BANT	20 x 10 ⁴	15 x 10 ³	45 x 10 ³
BANPA	0	0	0
BRS	9,0	25 x 10 ³	45 x 10

Bactérias Aeróbias Heterotróficas Totais (BAHT); Bactérias aeróbias produtoras de ácido (BAPA); Bactérias anaeróbias totais (BANT); Bactérias anaeróbias produtoras de ácido (BANPA); Bactérias redutoras de sulfato (BRS).

Distintamente ao ensaio conduzido sem injeção de CO₂, a concentração celular na fase planctônica ao final do processo foi igual ou maior à inicialmente determinada, com exceção das BANT (Tabela 4).

Da mesma forma, a presença de CO₂ não teve efeito na formação de biofilme. Ao contrário, foi maior o desenvolvimento da maior parte das populações bacterianas analisadas. Logo, o aumento do número de bactérias na fase planctônica pode ser atribuído ao desprendimento dos micro-organismos sésseis, já que conforme o experimento anterior esperava-se uma redução do número de micro-organismos em função do esgotamento de nutrientes, já que não ocorreu qualquer adição de compostos químicos durante o experimento. No entanto, neste caso não foi detectada a atividade de bactérias anaeróbias produtoras de ácido na fase planctônica, nem na fase sésil.

O aumento da vazão de CO₂ praticamente não interferiu no comportamento dos micro-organismos planctônicos e sésseis (Tabela 5), com exceção das bactérias aeróbias produtoras de ácido, apesar de terem sido encontradas nas planctônicas iniciais. Porém,

similarmente ao verificado para a menor vazão, não foram detectadas bactérias anaeróbias produtoras de ácido.

Novamente foi observado o aumento de bactérias, em especial de BRS, na fase planctônica no decorrer do experimento. Tal fato pode ser explicado pelo desprendimento parcial do biofilme já que os experimentos foram conduzidos com circulação de água em baixas velocidades, correspondentes a um regime de escoamento laminar. Nesta condição, há formação de biofilmes mais volumosos e menos densos, de fácil desprendimento.

Tabela 5: Análise microbiológica na fase planctônica e sésil para sistema operado com água do mar e injeção de CO₂ na vazão de 4 L/min.

Micro-organismos	Concentração de células planctônicas (NMP/mL)		Concentração de células sésseis (NMP/cm ²)
	Inicial	15 dias	15 dias
BAHT	95 x 10 ³	45 x 10 ³	75 x 10 ³
BAPA	45 x 10	0	0
BANT	15 x 10 ³	95 x 10 ³	45 x 10
BANPA	0	0	0
BRS	9,0	95 x 10 ²	45 x 10 ²

Bactérias Aeróbias Heterotróficas Totais (BAHT); Bactérias aeróbias produtoras de ácido (BAPA); Bactérias anaeróbias totais (BANT); Bactérias anaeróbias produtoras de ácido (BANPA); Bactérias redutoras de sulfato (BRS).

Com o aumento da vazão de CO₂ ocorreu variações de crescimento, e apresentou um caráter inibitório para os micro-organismos planctônicos dos grupos das BRS, das BAPA e das BAHT, provavelmente isso ocorreu, pois a adição de CO₂ abaixou o pH do sistema, por exemplo as BRS tem seu ótimo pH de crescimento próximo a 8 e as BAPA e BAHT tem seu pH ótimo próximo a 7. Entretanto as BANT tiveram variação contrária as expectativas, ainda com suas estimativas de crescimento altas, na ordem de 10⁴ NMP/mL.

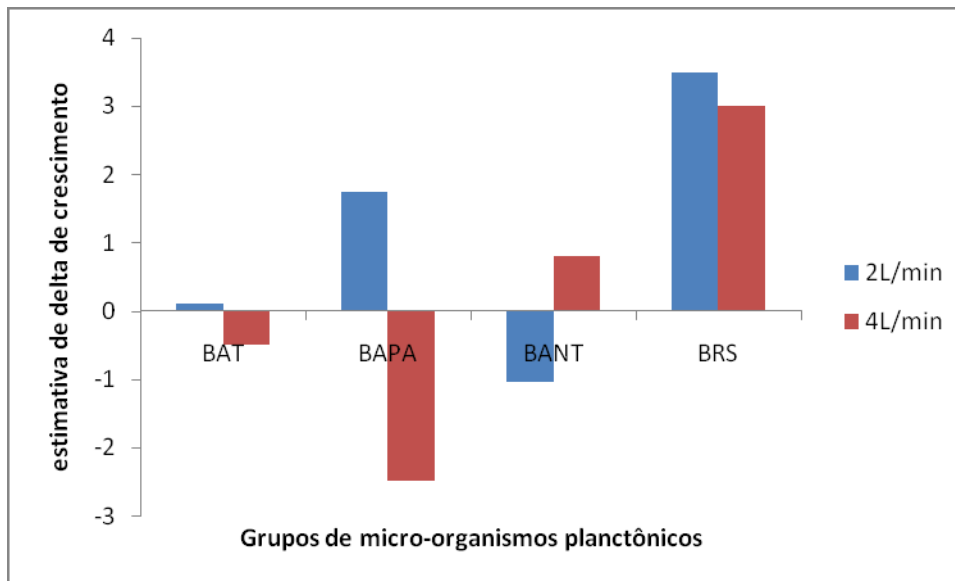


Figura 6: Análises comparativas do efeito do CO₂ micro-organismos na fase planctônica nas vazões de 2L/min. e 4L/min.

A análise do teste branco que foi realizado com injeção de CO₂ na vazão de 2 L/min. e com azida de sódio a 1% (p/v), assim com estas condições de tratamento foi possível alcançar a inativação das populações bacterianas no período experimental, não detectando o crescimento tanto dos micro-organismos planctônicos, quanto dos micro-organismos sésseis.

Na Figura 7 foram plotados os resultados das taxas de corrosão calculados para as diferentes condições operacionais testadas. A taxa de corrosão aumentou proporcionalmente ao aumento da concentração de CO₂ injetado. Contudo, mesmo no experimento realizado sem injeção de CO₂, a taxa de corrosão apresenta valor considerado severo. Apesar da baixa concentração celular no biofilme, provavelmente a corrosão foi intensa por conta do considerável crescimento das bactérias anaeróbias produtoras de ácido e das BRS, grupos microbianos principais responsáveis pela CMI.

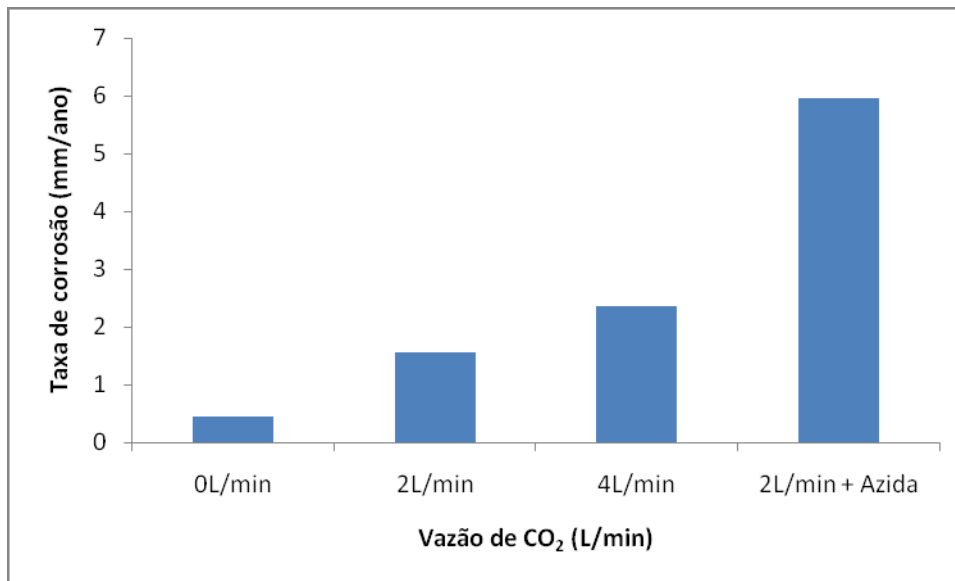


Figura 7: Taxa de corrosão em função da injeção de CO₂.

As altas taxas de corrosão calculadas quando se teve injeção de CO₂ pode ser atribuída à intrínseca ação deste gás como agente corrosivo e uma pequena parte ao desenvolvimento das BRS na fase sésil.

Ao contrário das expectativas, a taxa de corrosão no teste em branco também foi severa, superior às demais condições, e mais de 3,8 vezes superior a obtida para a mesma vazão com células ativas. Além do mais pode ser observado quando ocorre à presença de micro-organismos no biofilme, a taxa de corrosão cresce de forma mais homogênea. Possivelmente, os biofilmes tiveram caráter protetor reduzindo a ação corrosiva do dióxido de carbono.

5.2 – Influência da temperatura na formação de biofilmes e na corrosão do aço carbono AISI 1018

Na Tabela 6 são apresentados os resultados de quantificação das diferentes populações microbianas na fase planctônica para as diferentes temperaturas pesquisadas. Como esperado ocorreu um maior crescimento das bactérias mesófilas, predominantes na água do mar, em relação às bactérias termófilas. Porém, algumas

espécies bacterianas foram capazes de crescer também em condição de termofilia. Contudo, não foi detectado nenhum crescimento em temperatura de 70°C, por isso os dados referentes a esta temperatura não foram apresentados na tabela.

Tabela 6: Análise microbiológica na fase planctônica em diferentes temperaturas

Micro-organismos (NMP/mL)	Temperatura		
	30°C	47°C	60°C
BAHT	$8,6 \times 10^7$	$9,5 \times 10^2$	$4,3 \times 10^1$
BAPA	$3,4 \times 10^3$	$2,7 \times 10^2$	0
BANT	$7,5 \times 10^4$	$9,5 \times 10^1$	$5,5 \times 10^1$
BANPA	$4,5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^1$	0
BRS	$4,5 \times 10^1$	$3,5 \times 10^1$	0

Bactérias Aeróbias Heterotróficas Totais (BAHT); Bactérias aeróbias produtoras de ácido (BAPA); Bactérias anaeróbias totais (BANT); Bactérias anaeróbias produtoras de ácido (BANPA); Bactérias redutoras de sulfato (BRS).

Na Tabela 7 podem ser observados os resultados referentes aos micro-organismos sésseis nas diferentes temperaturas. Analogamente ao evidenciado para os micro-organismos planctônicos, a 30°C o crescimento foi maior. É ainda interessante notar que as populações predominantes na fase planctônica também foram dominantes no biofilme.

A densidade da população microbiana na fase aquosa é um dos principais fatores para a colonização de superfícies sólidas, uma vez que quanto maior o número de microrganismos, maior a probabilidade do contato destes com o material, dando início ao processo de formação do biofilme (VAN LOOSDRECHT *et al.*, 1990).

Tabela 7: Análise microbiológica na fase sésil em diferentes temperaturas

Micro-organismos (NMP/cm ²)	Temperatura		
	30°C	47°C	60°C
BAHT	53 x 10 ⁶	32 x 10 ³	38 x 10 ³
BAPA	86 x 10	45	0
BANT	46 x 10 ⁴	10 x 10 ³	54 x 10
BANPA	27 x 10	24	0
BRS	27 x 10	24	0

Bactérias Aeróbias Heterotróficas Totais (BAHT); Bactérias aeróbias produtoras de ácido (BAPA); Bactérias anaeróbias totais (BANT); Bactérias anaeróbias produtoras de ácido (BANPA); Bactérias redutoras de sulfato (BRS).

Como pode ser observado na Figura 8, as taxas de corrosão mais elevadas se encontram nas temperaturas de 30°C e 47°C, justamente onde foi maior o desenvolvimento dos micro-organismos sésseis.

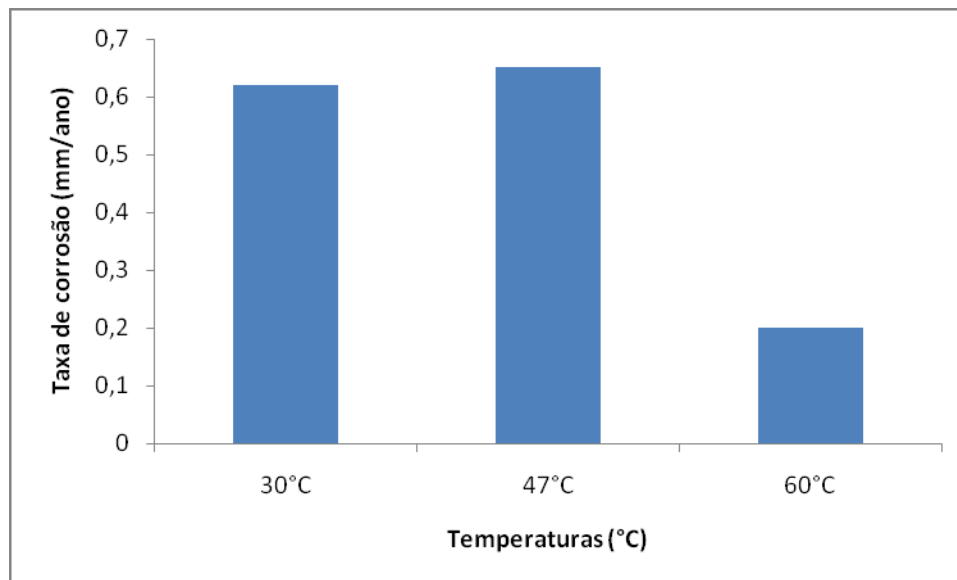


Figura 8: Taxas de corrosão dos ensaios realizados em temperaturas distintas.

Observa-se que no teste branco as taxas de corrosão são ligeiramente maiores nas temperaturas mais altas, isso se deve pela relação entre a temperatura ser diretamente proporcional à ação corrosiva, pois seu aumento causa a diminuição da polarização e aumento da condutividade de eletrólito e da velocidade de difusão dos íons.

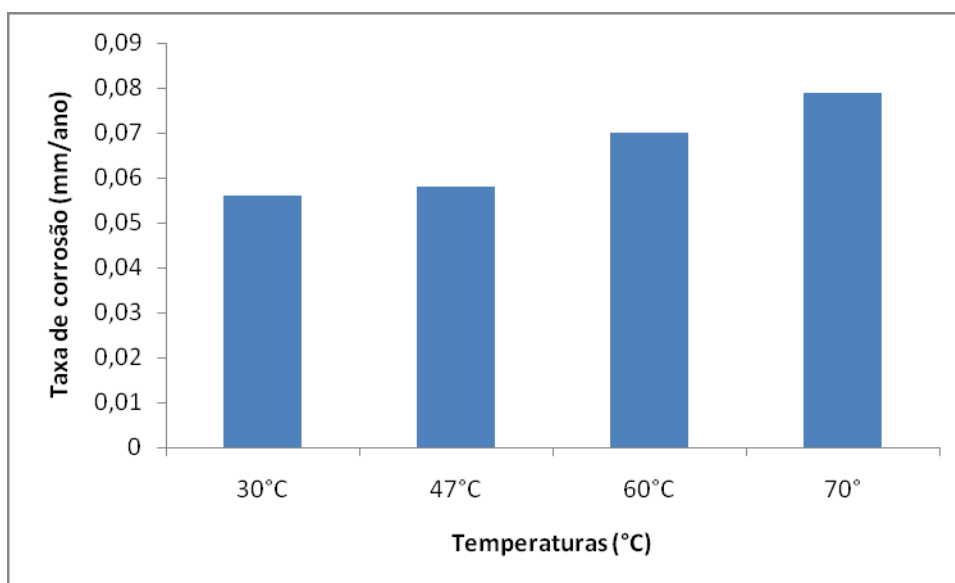


Figura 9: Taxas de corrosão dos testes brancos realizados em temperaturas distintas.

Também se deve destacar que a CMI é um fenômeno complexo e dinâmico que depende da interação entre micro-organismos, e que neste caso podem estar envolvidas espécies de outros grupos microbianos como, por exemplo, ferrobactérias e fungos.

5.3 – Monitoramento da atuação do nitrato de sódio como biocida.

As concentrações do consórcio das BRS adicionados ao sistema, para enriquecimento dos micro-organismos planctônicos foram de 15×10^4 , 11×10^6 e 11×10^7 NMP/mL, nas concentrações de 500ppm, 300ppm e 100ppm, respectivamente.

Após 288 horas, o tratamento com 500ppm de nitrato de sódio resultou na redução do número de Bactérias Aeróbias Heterotróficas Totais em 1 ordem de grandeza, de bactérias aeróbias produtoras de ácido em 1 ordem de grandeza, e de BRS em 3 ordens de grandeza, alcançando a sua inativação total (Figura 10). Cabe ressaltar que 120 horas após a aplicação do biocida, a concentração celular apresentou elevação.

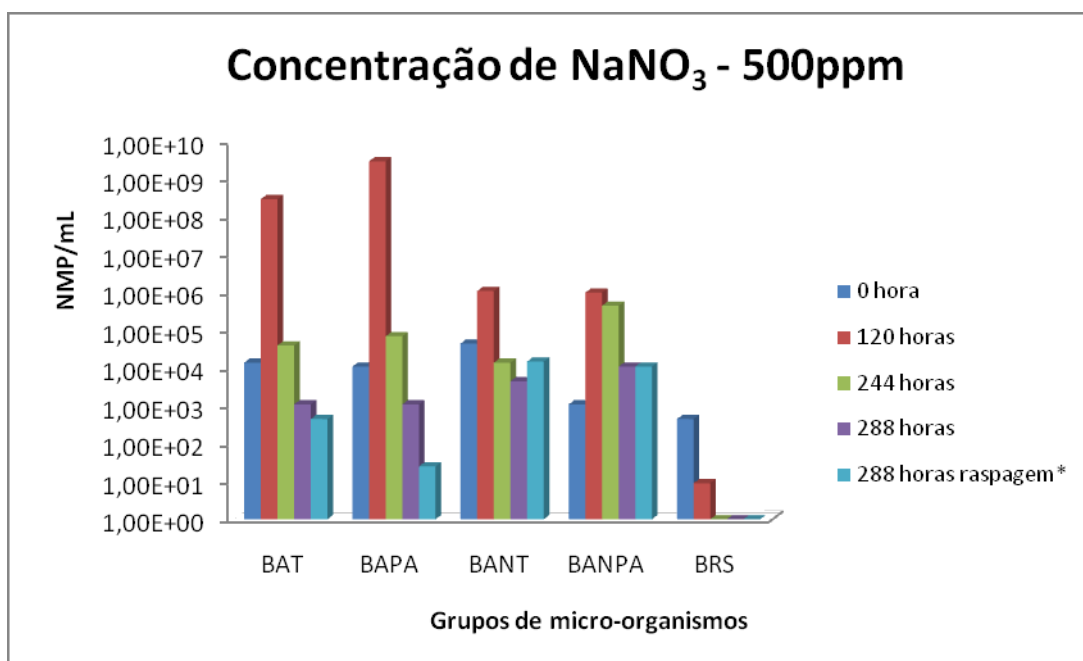


Figura 10: Quantificação de micro-organismos: Bactérias Aeróbias Heterotróficas Totais (BAHT), bactérias aeróbias produtoras de ácido (BAPA), bactérias anaeróbias totais (BANT), bactérias anaeróbias produtoras de ácido (BANPA) e BRS, em diferentes tempos, em meio contendo 500ppm de nitrato de sódio. *NMP/cm².

Novamente após a adição do nitrato a 300ppm ocorreu o aumento dos micro-organismos, inclusive as BRS. Contrário ao previsto como o nitrato foi detectado um ótimo biocida no experimento de 500ppm, por ter reduzido a população a zero já no tempo de 244 horas, ao final do experimento de 300ppm detectou-se as BRS na forma planctônica, sabe-se que algumas BRS podem utilizar nitrato comoceptor final de elétrons, razão que explica a sua presença na forma planctônica. Entretanto não ocorreu adesão das BRS ao biofilme, oposto aos outros micro-organismos anaeróbicos que tiveram melhor desenvolvimento na forma sésil, esses que possivelmente são micro-organismos facultativos, pois inicialmente para adesão é favorecida quando há um

crescimento aeróbio, produzindo grande quantidade de exopolímeros e com o passar do tempo possibilita o desenvolvimento em anaerobiose na base do biofilme.

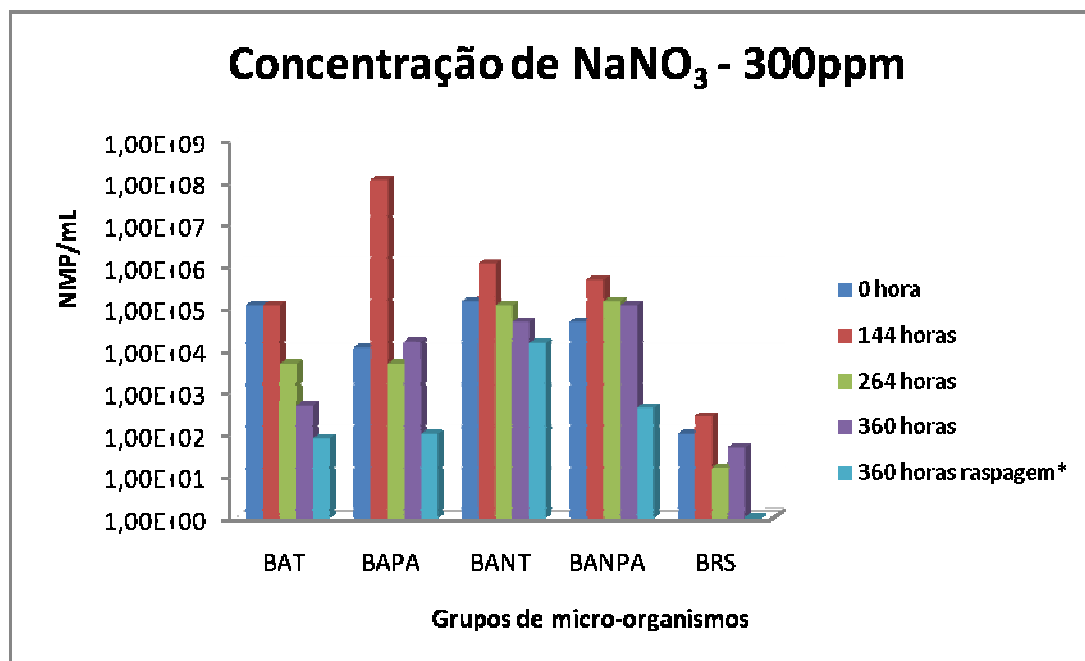


Figura 11: Quantificação de micro-organismos: Bactérias Aeróbias Heterotróficas Totais (BAHT), bactérias aeróbias produtoras de ácido (BAPA), bactérias anaeróbias totais (BANT), bactérias anaeróbias produtoras de ácido (BANPA) e BRS, em diferentes tempos, em meio contendo 300ppm de nitrato de sódio. *NMP/cm².

Na Figura 12 estão representados os valores referentes a concentração celular das populações microbianas ao longo do tempo pelo tratamento com 100ppm de nitrato. Mesmo sendo alta a concentração inicial de BRS, neste experimento não foi evidenciado BRS tanto na fase planctônica, quanto na fase sésil em 360 horas, conseqüentemente não se detectou a atividade de espécies capazes de utilizar nitrato como acceptor final de elétrons, proporcionando a exclusão das BRS. O aumento das planctônicas no tempo de 216 horas pode ser atribuído ao desprendimento de parte do biofilme.

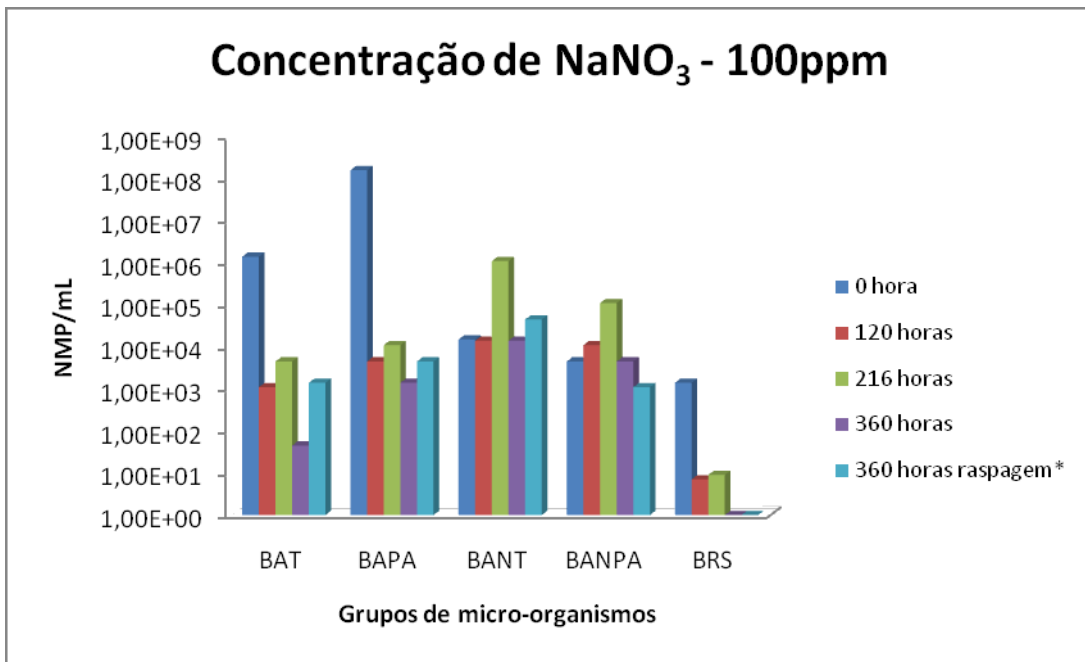


Figura 12: Quantificação de micro-organismos: Bactérias Aeróbias Heterotróficas Totais (BAHT), bactérias aeróbias produtoras de ácido (BAPA), bactérias anaeróbias totais (BANT), bactérias anaeróbias produtoras de ácido (BANPA) e BRS, em diferentes tempos, em meio contendo 100ppm de nitrato de sódio. *NMP/cm².

A aplicação de nitrato favorece a atividade das bactérias redutoras de nitrato (BRN), pois a redução do nitrato concede aos microrganismos um ganho energético consideravelmente maior do que a redução do sulfato. Assim, a presença de nitrato estimula o crescimento de BRN e acaba inibindo o metabolismo de BRS. As BRN em número maior podem ainda competir mais intensamente por fontes de carbono, dificultando o crescimento ainda mais das BRS (ENERGY INSTITUTE, 2003). Além do mais a redução do nitrato a nitrogênio gasoso produz intermediários, como o nitrito, óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N₂O) e amônia (NH₃), que possuem capacidade de elevar o E_H do meio tornando-o impróprio para as BRS (REINSEL et al., 1996).

Porém em muitos dos resultados pode-se observar que quando ocorreu à adição de nitrato e a adição dos meios de culturas de BRS houve um crescimento no número de células. No entanto, é notável que ao final de todos os experimentos nenhuma BRS conseguiu ser quantificada quando aderida e dentre os organismos planctônicos apenas na concentração de 300ppm foi encontrada, isso aconteceu, possivelmente pela existência de BRS capazes de utilizar o nitrato como acceptor final de elétrons,

juntamente com a alta concentração de nitrato, podendo ser consumido tanto pelas BRN, quanto as BRS.

Outro destaque importante deve-se ao fato que alguns micro-organismos tiveram números concentrações iniciais diferentes nos experimentos, isso foi atribuído às variações sazonais apesar do mesmo local de coleta.

As taxas de corrosão em todos os experimentos tiveram valores semelhantes, sendo os mesmos considerados severos como apresentado na figura 13.

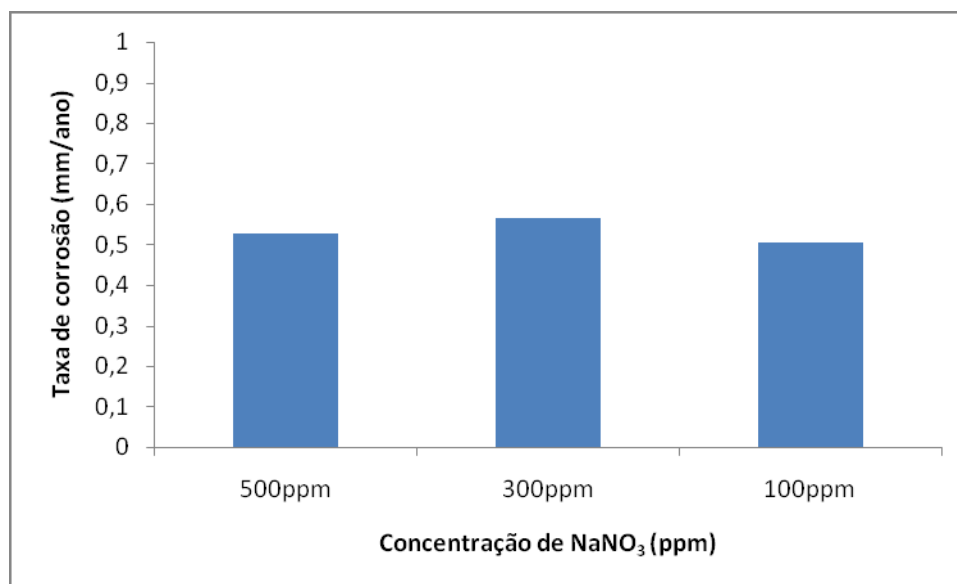


Figura 13: Taxas de corrosão em presença de diferentes concentrações de nitrato de sódio

Não foi possível identificar os micro-organismos que mais influenciaram no processo de corrosão, no entanto, sabe-se que as bactérias anaeróbias produtoras de ácido e as BRS são os principais responsáveis pela biocorrosão. Como não houve crescimento de BRS na fase séssil durante os experimentos, foi creditada as bactérias anaeróbias produtoras de ácido boa parte da responsabilidade pela corrosão.

Outro destaque da corrosão dos corpos-de-prova deve-se ao nitrato que tem um alto poder oxidante. Esta alta corrosividade do fluido pode ser atribuída à formação de enxofre elementar, resultante da oxidação de sulfeto presente no fluido que provocou

elevações intermitentes do potencial redox do ambiente, o que acelerou fortemente a corrosão do aço carbono.

6 – CONCLUSÕES

A adição de CO₂ não inibiu a formação de biofilmes. Contudo como a taxa de corrosão foi maior no teste em branco (células inativadas e 2 L/min. de CO₂) comparativamente aos ensaios realizados com células ativas, com e sem injeção de CO₂, identifica-se a ação corrosiva do CO₂, mostrando a necessidade de realizar o controle de materiais onde existia indícios da presença deste gás. De certa forma o biofilme protegeu o aço carbono contra a ação do CO₂. Mesmo assim, as taxas de corrosão calculadas podem ser consideradas severas nas condições operacionais testadas segundo classificação NACE.

A temperatura apresenta extrema importância na formação de biofilmes, e consequentemente na CMI. As taxas de corrosão foram mais elevadas nas temperaturas onde ocorreu maior crescimento, isto é, em mesofilia.

O nitrato de sódio funcionou como um ótimo biocida e promoveu um decréscimo na concentração de BRS, que apresentaram pouco crescimento no estágio planctônico quando foi utilizada a concentração de 300ppm, não sendo detectadas no estado sésil. Nos corpos-de-prova foram determinadas altas taxas de corrosão apesar de não haver crescimento das BRS, identificando assim o nitrato como agente potencialmente oxidante.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRANTES, A. C. T. G.; PONTE, H. A. Análise da corrosão e da erosão-corrosão do aço carbono em meio com NaHCO_3 e CO_2 . In: CONGRESSO SOBRE TECNOLOGIA DE EQUIPAMENTOS, 6, Salvador, 2002. Anais..., 2002.

AL-AHMAD, M.; ABDUL ALEEM, F. A.; MUTIRI, A.; UBAISY, A. Biofouling in RO membrane system part 1: fundamentals and control. *Desalination: Amsterdam*, v. 132, n. 1-3, p. 173-179, 2000.

ALMEIDA, M. A. N.; DE FRANÇA, F. P. Thermophilic and mesophilic bacteria in biofilms associated with corrosion in a heat exchanger. *World J Microbiol Biotechnol: Dordrecht*, v. 15, n. 4, p. 439-442, 1999.

ALMEIDA, M. A. N.; SÉRVULO, E. F. C.; FRANÇA, F. P. Monitoramento da formação do biofilme em torre de refrigeração. In: CONGRESSO SOBRE TECNOLOGIA DE EQUIPAMENTOS, 6, Salvador, 2002. Anais..., 2002.

ANDRADE, C. A.; MULLER, E. G.; SILVA, O. P. Avaliação em campo do tratamento com íons nitrato para controle da geração de H_2S biogênico em tanques de navio-plataforma. Parte 2: impactos na corrosão. In: CONGRESSO SOBRE TECNOLOGIA DE EQUIPAMENTOS, 6, Salvador, 2002. Anais..., 2002.

ANDRADE, C. A.; SILVA, J. M.; BRITO, R. F.; SILVA, E. D. Avaliação da corrosividade do nitrato/nitrito usados alternativamente como biocidas em sistemas de injeção de água do mar. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CORROSÃO, 22, Salvador, 2002. Anais..., 2002.

BAI, Z. Q.; CHEN, C. F.; LU, M. X.; LI J. B. Analysis of EIS characteristics of CO_2 corrosion of well tube steels with corrosion scales. *Appl Surf Sci: Amsterdam*. v. 252, n.20, p.7578-7584, 2006.

BEECH, I. B. & GAYLARD, C.C. 1989. Adhesion of *Desulfovibrio desulfuricans* and *Pseudomonas fluorescens* to mild steel surfaces. *J of Applied Bacteriology*, 67: 201-207.

BARTON, L.L.; TOMEI, F. A. Characteristics and activities of sulfate-reducing bacteria. In: BARTON, L. L.(Ed.). *Sulfate-reducing bacteria*. New York: Plenum Press, 1995. cap. 1, p. 1-32. (Biotechnology Handbooks, 8).

COSTERTON, J. W.; LEWANDOWSKI, Z.; DEBEER, D.; CALDWELL, D.; KORBER, D.; JAMES, G. Biofilms, the customized microniche. *J Bacteriol: Washington*, v. 176, n. 8, p. 2137-2142, 1994.

COSTERTON, J. W.; LEWANDOWSKI, Z.; CALDWELL, D. E.; KORBER, D. R.; LAPPIN-SCOTT, H. M. Microbial biofilms. *Ann Rev Microbiol: Palo alto*, v. 49, n. 1, p. 711-745, 1995.

CRAVO JUNIOR, W. B.; FRANÇA, F. P. Efeito da desaeração parcial do fluxo aquoso em sistema dinâmico na formação de biofilmes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE P & D EM PETRÓLEO E GÁS, 2, Rio de janeiro, 2003. Anais..., 2003.

ENERGY INSTITUTE. The stimulation of nitrate-reducing bacteria (NRB) in oilfiled systems to control sulphate-reducing bacteria (SRB), microbiologically influenced corrosion (MIC) and reservoir: an introductory review. London: Energy Institute, 2003.

FANG, H. H. P., XU L. C. & CHAN, K. Y. Effects of toxic metals and chemicals on biofilms and biocorrosion. *Wat Res: Oxford*, v. 36, n. 19, p. 4709-4716, 2002.

FRANÇA, F. P.; DIAS, D. S. B.; MELO, I. R.; LUTTERBACH, M. T. S. Effect of introduction of CO₂ on the formation of biofilm/biocorrosion on AISI 1018 carbon steel surfaces exposed in a dynamic system. In: CORROSION 2009 CONFERENCE & EXPO, Atlanta, 2009. Anais..., 2009.

FRANÇA, F. P.; DIAS, D. S. B.; ROSA, G. S.; SILVA, L. J.; MATOS, D. B. C.; PIMENTA, G. S.; SILVA, A. C. Formação de biofilmes em superfície de aço carbono

AISI 1018 expostos a diferentes temperaturas. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE CORROSÃO, Fortaleza, 2006. Anais..., 2006.

FRANÇA, F. P.; SILVA, A. C.; SÉRVULO, E. F. C.; DIAS, D. S. B.; SILVA, L. J.; MOREIRA, A. P. E.; SIMÕES, A. V. Formação de biofilmes em segmentos da indústria do petróleo. In: CONGRESSO SOBRE TECNOLOGIA DE EQUIPAMENTOS, 6, Salvador, 2007. Anais..., 2007.

FRANÇA, F. P.; SILVA, A. C.; SÉRVULO, E. F. C.; DIAS, D. S. B.; SILVA, L. J.; MOREIRA, A. P. E.; SIMÕES, A. V. Monitoring of biofilm formation in pipelines. In: EUROCORR PROGRESS BY CORROSION CONTROL, 289, Freiburg, 2007. Anais..., 2007.

GENTIL, V. 1996. Corrosão. 3ª ed, Rio de Janeiro, Livros Técnicos e Científicos.

GILBERT, P., MCBAIN, A. J. & RICKARD, A. H. 2003. Formation of microbial biofilm in hygienic situations: a problem of control. *International Biodeterioration Biodegradation*, 51: 245-248.

GONÇALVES, N. J., 2002. Potencialidade do tratamento por choque com biocidas na remoção e/ou formação de biofilmes. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, 146 p.

ISMAIL, K. H. M.; JAYARAMAN, A.; WOOD, T. K.; EARTHMAN, J. C. The influence of bacteria on the passive film stability of 304 stainless steel. *Electrochem Acta*: Oxford, v. 44, n. 26, p. 4685-4692, 1999.

JAIN, D. K. Microbial colonization of the surface of stainless steel coupons in a deionized water system. *Wat Res*: Oxford, v. 29, n. 8, p. 1869-1876, 1995.

JAYARAMAN, A.; HALLOCK, P. J.; CARSON, R. M. Inhibiting sulfate-reducing bacteria in biofilms on steel with antimicrobial peptides generated *in Situ*. *App Microbiol Biotechnol*: Berlin, v. 52, n. 2, p. 267-275, 1999.

JOHANSEN, C.; FALHOLT, P.; GRAM, L. Enzymatic removal and disinfection of bacterial biofilms. *App Environ Microbiol*: Washington, v. 63, n. 9, p. 3724-3728, 1997.

LUDENSKY, M. L. 1998. An automated system for biocides testing on biofilms. *J of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 20: 109-115.

LUTTERBACH, M. T. S.; DE FRANÇA, F. P. Biofilm formation in water cooling systems. *World J Microbiol Biotechnol*: Dordrecht, v. 12, n. 4, p. 391- 394, 1996.

MAGALHÃES, F. C. M.; BAPTISTA, W.; PENNA, M. O.; SILVA, E. D.; OLIVEIRA, H. B.; COSTA, J. C. M. critérios para avaliação da corrosividade de solos por bactérias redutoras de sulfato. In: CONGRESSO SOBRE TECNOLOGIA DE EQUIPAMENTOS, 6, Salvador, 2002. Anais..., 2002.

MARCUS, P.; OUDAR, J. 1995. Corrosion Mechanisms in theory and practice. Series Corrosion Technology, 1st. ed., v.8, Marcelula Dekker, Inc: New York, 641p.

O'TOOLE, E.; KAPLAN, H. B.; KOLTER, R. Biofilm formation as microbial development. *Annu Rev Microbiol*. Palo Alto, v. 54, n. 1, p. 49-79, 2000.

PENNA, M. O.; ANDRADE, C. A.; NASCIMENTO, J. R.; SUFLITA, J. M.; DAVIDOVA, I. A. Uso de nitrato para controle do H₂S biogênico (*souring*) em tanques de navios-plataforma. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE CORROSÃO 2006, Fortaleza, 2006. Anais..., 2006.

PENNA, M. O.; VALONI, E. A.; SOUZA, L. S.; NASCIMENTO, J. R.; SILVA, N. L. Avaliação em campo do tratamento com íons nitrato para controle da geração de H₂S biogênico em tanques de navio-plataforma. Parte 1: monitoramento químico e microbiológico. In: CONGRESSO SOBRE TECNOLOGIA DE EQUIPAMENTOS, 6, Salvador, 2002. Anais..., 2002.

PERCIVAL, S. L.; KNAPP, J. S.; EDYVEAN, R. G. J.; WALES, D. S. Biofilms, mains water and stainless steel. *Wat Res*: Oxford, v. 32, n. 7, p. 2187-2201, 1998.

POSTGATE, J. R. The sulphate-reducing bacteria. 2. ed. Cambridge: University Press, 1984. 209 p.

POTEKHINA, J. S., SHERISSHEVA, N. G., POVETKINA, L. P., POSPELOV, A. P., RAKITINA, T. A., WARNECKE, F. & GOTTSCHALK, G. 1999. Role of microorganisms in corrosion inhibition of metals in aquatic habitats. *App. Microbiology Biotechnology*, 52: 639-645.

REINSEL, M. A.; SEARS, J. T.; STEWART, P. S.; MCINERNEY, M. J. Control of microbial souring by nitrate, nitrite or glutaraldehyde injection in a sandstone column. *Journal of Industrial Microbiology*. v. 17, p. 128-136. 1996.

SANTOS, L. S.; FRANÇA, F. P.; CRAVO JUNIOR, W. B.; PIMENTA, G. S. Aderência de microrganismos termófilos em superfície de aço carbono 1018. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CORROSÃO, 22, Salvador, 2002. *Anais...*, 2002.

SRINIVASAN, R.; STEWART, P. S.; GRIEBE, T.; CHEN, C. Biofilm parameters influencing biofilm efficacy. *Biotechnol Bioeng*: New York, v. 46, n. 2, p. 553-560, 1995.

SRIVASTAVA, R. B. Interfacial phenomena in biocorrosion. *Pure Appl Chem*: cidade. v. 70, n. 3, p. 627-632, 1998.

STAROSVETSKY, D., ARMON, R., YAHALOM, J. & STAROSVETSKY, J. 2001. Pitting corrosion of carbon steel caused by iron bacteria. *International Biodeterioration Biodegradation*, 47: 79-87.

SUNNY CHEUNG, C. W.; BEECH, I. B. The use of biocides to control sulphate-reducing bacteria in biofilms on mild steel surfaces. *Biofouling*: cidade. v. 9, n. 3, p. 231-249, 1996.

TELEGDI, J.; SHABAN, A.; KÁLMÁN, E. EQCM study of copper and iron corrosion inhibition in presence of organic inhibitors and biocides. *Electrochem Acta*: Oxford. v. 45, n. 22-23, p. 3639-3647, 2000.

THOMAS, J. E. (Org.) Fundamentos de Engenharia de Petróleo. 2ª ed., Interciência: Rio de Janeiro, 2001. 271p.

TORRES, E. S. Cinética de parâmetros microbiológicas na formação de biofilmes. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001.

VAN LOORDRECHT, M. C. M., LYKLEMA, J., NORDE, W.; SEHNDER, A. J. B. Influence of interfaces on microbial activity. *Microbiol Rev:Washington*. v. 54, n. 1, p. 75-87, 1990.

VIDELA, H. A., GUIAMET, P. S., VIERA, M. R., GÓMEZ DE SARAVIA, S. G.; GAYLARDE, C. C. A. Comparison of the action of various biocides on corrosive films. *Corrosion*. v. 286, n.1, p. 1-9, 2002.

VILLARREAL, J.; LAVERDE, D.; FUENTES C. Carbon-steel corrosion in multiphase slug flow and CO₂. *Corrosion Sci: Amsterdam*. v.48, n.9, p.2363-2379, 2006.
