UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

ESCOLA DE QUÍMICA

Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos

AVALIAÇÃO DE PROANTOCIANIDINAS EXTRAÍDAS DA FIBRA DO COCO (*Cocos nucifera* L) COMO BIOCIDA E INIBIDOR DE CORROSÃO

DOUGLAS GUEDES FERREIRA

Rio de Janeiro

2018

AVALIAÇÃO DE PROANTOCIANIDINAS EXTRAÍDAS DA FIBRA DO COCO (*Cocos nucifera* L.) COMO BIOCIDA E INIBIDOR DE CORROSÃO

DOUGLAS GUEDES FERREIRA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientação: Profª Eliana Flávia Camporese Sérvulo, D.Sc.

Profª Leila Yone Reznik, D.Sc.

Márcia Teresa Soares Lutterbach, D.Sc.

EQ/UFRJ

Rio de Janeiro

2018

CIP - Catalogação na Publicação

GF383A
a

Guedes Ferreira, Douglas
Avaliação das Proantocianidinas Extraídas da Fibra do Coco (Cocos nucifera L) como Biocida e Inibidor de Corrosão / Douglas Guedes Ferreira. -- Rio de Janeiro, 2018.
124 f.

Orientadora: Eliana Flávia Camporese Sérvulo.
Coorientadora: Leila Yone Reznik.
Tese (doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Programa de Pós Graduação em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos, 2018.

1. Compostos Fenólicos Poliméricos. 2. Taninos Condensados. 3. Teste de Ecotoxicidade. 4. Concentração Mínima Inibitória. 5. Percentual de Eficiência do Inibidor. I. Flávia Camporese Sérvulo, Eliana , orient. II. Yone Reznik, Leila, coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

AVALIAÇÃO DE PROANTOCIANIDINAS EXTRAÍDAS DA FIBRA DO COCO (*Cocos nucifera* L.) COMO BIOCIDA E INIBIDOR DE CORROSÃO

DOUGLAS GUEDES FERREIRA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovada por:

_____

Eliana Flávia Camporese Sérvulo, D.Sc.
(Orientadora e presidente da Banca - Universidade Federal do Rio de Janeiro, EQ/UFRJ)

_____

Leila Yone Reznik, D.Sc.
(Orientadora - Universidade Federal do Rio de Janeiro, EQ/UFRJ)

_____

Márcia Teresa Soares Lutterbach, D.Sc.
(Orientadora – Instituto Nacional de Tecnologia, DCOR/INT)

_____

Simone Louise Delarue Cezar Brasil, D.Sc.
(Universidade Federal do Rio de Janeiro, EQ/UFRJ)

_____

Márcia Monteiro Machado Gonçalves, D.Sc.
(Universidade do Estado do Rio de Janeiro, IQ/UERJ)

_____

Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes, D.Sc.
(Universidade Federal da Paraíba, CBiotec/UFPB)

_____

Diogo Simas Bernardes Dias, D.Sc.
(Centro de Tecnologia Mineral, CETEM)

Rio de Janeiro
2018

Dedico este trabalho a todos que me ajudaram a chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus! Pois em todos os momentos de desespero, agonia e desorientação ele agiu em minha vida enviando anjos para me acalentar e tornar tudo isso possível;

À minha mãe, Lucimar, cujo empenho e dedicação tornou tudo possível me incentivando (obrigando seria o termo mais adequado) a continuar quando o desejo de desistir falava mais alto. E, por me fazer entender que o conhecimento era o único caminho;

Ao meu companheiro, Jeferson, que suportou todas as crises sempre com paciência e amor, me dando condições de prosseguir;

Às minhas irmãs, Diana e Déborah, que independente de qualquer coisa nos momentos de necessidade se fazem presentes;

Aos meus afilhados, Erika e João, por me instigarem a ser um ser humano melhor e servir de exemplo;

Ao meu pai, Sebastião, pelo investimento na minha educação;

A todos os membros da minha família que compartilharam das minhas dores e ausências, compreendendo que sacrifícios são necessários para alcançar os objetivos;

À Profª Eliana, pelo voto de confiança no início de tudo, e me fazer acreditar que com dedicação, tudo é possível.

À Profª Leila, pela colaboração, carinho e dedicação;

À Drª Márcia, por me proporcionar a primeira experiência profissional e conhecer o mundo fora da academia;

A todos os meus irmãos da tenda espírita do Pai Mané, por sua fé e confiança de que tudo vai dar certo, independente dos obstáculos que fazem parte da caminhada;

À toda a equipe do Laboratório de Biodegradação, Biocorrosão e Biossíntese que sempre foram muito mais que colegas de trabalho, mas sim amigos com quem compartilhei as dores e delícias do universo acadêmico;

Em especial, meus queridos amigos Lizeth e Diogo que aturaram mais minhas lamúrias e estiveram sempre presentes e dispostos a ajudar nos meus momentos de necessidade (que foram muitos);

À toda a equipe do Laboratório de Corrosão Vicente Gentil (EQ/UFRJ) pela parceria e amizade ao longo desses anos;

À toda equipe do Laboratório de Biodegradação e Biocorrosão (DCOR/INT) pela colaboração e disponibilidade ao longo desses anos;

À toda a equipe do Laboratório de Microbiologia do Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP/UFF) pela colaboração durante todo esse tempo;

À todas as agências de fomento (CNPq, CAPES, FAPERJ e ANP) pelo incentivo à qualificação.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a conclusão desse ciclo da minha vida.

Resumo da Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências.

AVALIAÇÃO DE PROANTOCIANIDINAS EXTRAÍDAS DA FIBRA DO COCO (*Cocos nucifera* L.) COMO BIOCIDA E INIBIDOR DE CORROSÃO

DOUGLAS GUEDES FERREIRA
AGOSTO, 2018

Orientação: Profª Eliana Flávia Camporese Sérvulo, D.Sc.

Profª Leila Ione Resnik, D.Sc.

Márcia Teresa Soares Lutterbach, D.Sc.

Atualmente, há grande preocupação no manejo sustentável dos recursos naturais, de modo que é fundamental o aproveitamento máximo de resíduos, sejam eles sólidos ou líquidos. O coco (*Cocos nucifera*) é um fruto amplamente produzido e consumido nos países tropicais, contudo apenas a água, a polpa e o óleo desse fruto são aproveitadas pela indústria de alimentos. Portanto, mais de 80% desse fruto, referentes à casca, são descartados no meio ambiente como resíduos sólidos. A caracterização química da composição da fibra da casca do coco indica que a fração de ligninas contém aproximadamente 10% (m/m) de proantocianidinas, também conhecidas como taninos condensados, que são compostos fenólicos poliméricos com grande potencial biotecnológico. Assim, o extrato aquoso das proantocianidinas extraídas da fibra de coco foi avaliado por seu potencial biocida e inibidor de corrosão. Para tanto, as proantocianidinas foram avaliadas quanto à sua toxicidade pelo teste de germinação de sementes e alongamento das raízes. Na sequência, o efeito biocida das proantocianidinas foi avaliado pela determinação da concentração mínima inibitória (CMI) para microrganismos de interesse na biocorrosão (*Pseudomonas aeruginosa*, *Shewanella* sp. e bactérias redutoras de sulfato-BRS) isolados de água de sistema de refrigeração. Os resultados obtidos com esse estudo indicam que as proantocianidinas não apresentam toxicidade ao meio ambiente, de acordo com o teste germinação de sementes e alongamento de raízes, uma vez que não interferiu no número de sementes germinadas e provocou mais de 30% de aumento no tamanho das raízes. Em relação ao efeito biocida, as proantocianidinas extraídas da fibra do coco apresentaram CMI de 3 g/L para as espécies de *P. aeruginosa* e *Shewanella* sp. e 2 g/L para o consórcio de BRS. Por fim, diferentes concentrações de proantocianidinas foram utilizadas em ensaios eletroquímicos para averiguar sua interferência na inibição da corrosão do aço carbono AISI 1020 em solução sintética contendo cloreto (500 ppm), sulfato (150 ppm) e carbonato de cálcio (150 ppm) em diferentes valores de pH e temperatura. Em resposta, foi possível verificar que as proantocianidinas reduziram a velocidade das reações catódicas e da formação de uma película negra protetora adsorvida na superfície metálica após 24 horas de imersão para concentrações superiores a 0,8 g/L. Em relação a influência do pH, temperatura e da concentração de proantocianidinas, apenas a temperatura apresentou efeito considerado estatisticamente significativo na inibição da corrosão de aço carbono AISI 1020. Os resultados obtidos nesse trabalho indicam que as proantocianidinas extraídas da fibra de coco não apresentam efeito ambiental negativo, demonstrando potencial para aplicação em campo. Entretanto, as proantocianidinas extraídas da fibra do coco apresentaram concentrações altas para aplicação em larga escala como biocida, entretanto, seu efeito na biocorrosão não foi avaliado. Em contrapartida os resultados em relação à atividade como inibidor de corrosão são promissores. A partir dos dados fornecidos nesse estudo, as proantocianidinas ainda podem ser estudadas quanto sua ação em biofilmes e a sua associação com inibidores de corrosão comerciais e verificar se há possibilidade de aplicação industrial.

Palavras-chave: compostos fenólicos poliméricos; taninos condensados; teste de ecotoxicidade; concentração mínima inibitória; percentual de eficiência do inibidor.

Abstract of the Thesis presented to the Postgraduate Course in Chemical and Biochemical Processes Engineering Technology of the Chemistry School/Federal University of Rio de Janeiro as part of the necessary requirements to obtain the degree of Doctor of Science.

EVALUATION OF PROANTOCYANIDINES EXTRACTED FROM COCONUT HUSK FIBER (*Cocos nucifera* L.) AS BIOCIDE AND CORROSION INHIBITOR

DOUGLAS GUEDES FERREIRA
AUGUST, 2018

Orientation: Profª Eliana Flávia Camporese Sérvulo, D.Sc.

Profª Leila Ione Resnik, D.Sc.

Márcia Teresa Soares Lutterbach, D.Sc.

Currently, there is great concern in the sustainable management of natural resources. Then, the maximum use of residues, solid or liquid, is fundamental. Coconut (Cocos nucifera) is a fruit widely produced and consumed in tropical countries, but only water, kernel and oil of this fruit are used by food industry. Therefore, more than 80% of this fruit, referring to the bark, is discarded in the environment as solid waste. The chemical characterization of the coconut husk fiber indicates that lignin fraction is compost by 10% (m/m) of proanthocyanidins, also called condensed tannins, which are polymeric phenolic compounds with great biotechnological potential. Thus, the aqueous extract of proanthocyanidins extracted from coconut husk fiber was evaluated for its biocidal and corrosion inhibitors potential. For this, proanthocyanidins were evaluated for their toxicity by the test of seed germination and root elongation. Subsequently, the biocidal effect of proanthocyanidins was evaluated by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) for microorganisms of interest in the biocorrosion (*Pseudomonas aeruginosa*, *Shewanella sp*. and sulfate reducing bacteria-SRB) isolated from cooling system fluid. The results obtained with this study indicate that proanthocyanidins do not present toxicity to the environment, according to the seed germination and root elongation test, and did not interfere in the number of germinated seeds and caused more than 30% increase in size of the roots. The biocidal effect, the proanthocyanidins extracted from the coconut fiber had a MIC of 3 g / L for *P. aeruginosa* and *Shewanella* sp. and 2 g / L for the BRS consortium. Also, different concentrations of proanthocyanidins were used in electrochemical tests to investigate their interference in the corrosion inhibition of AISI 1020 carbon steel in synthetic solution containing chloride (500 ppm), sulfate (150 ppm) and calcium carbonate (150 ppm) in different values of pH and temperature. The evaluation of activity as a corrosion inhibitor indicated interfering activity by reducing the rate of cathodic reactions and the formation of a protective black film adsorbed on the metal surface after 24 hours of immersion at concentrations above 0.8 g / L. The analysis of pH, temperature and proanthocyanidin concentration influence on corrosion process shows that only the temperature of the sample was only considered statistically significant in the corrosion inhibition of AISI 1020 carbon steel. The results obtained indicate that the proanthocyanidins extracted from coconut husk fiber had no negative effect to the environment, being possible its application in bioprospecting studies. Proanthocyanidins extracted from coconut fiber showed high concentrations for large scale application as a biocide, but their effect on biofilms is unknown. In contrast, the results regarding activity as a corrosion inhibitor are promising. Based on the information in this study, proanthocyanidins can still be studied for their action on biofilms and their association with commercial corrosion inhibitors to verify the possibility of industrial application.

Keywords: polymeric phenolic compounds; condensed tannins; ecotoxicity test; minimum inhibitory concentration; percentage of inhibitor efficiency.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura oligomérica das proantocianidinas 7

Figura 2 - Mecanismo de ação proposto para a inibição da corrosão do aço por compostos fenólicos de origem vegetal 8

Figura 3 - Ciclo da Corrosão 10

Figura 4 - Custos com corrosão de cinco setores da indústria dos Estados Unidos 6

Figura 5 - Vias de redução e oxidação do enxofre na natureza 14

Figura 6 - Sequência de reações de redução do sulfato a sulfeto pela ação da enzima DSR (sigla em inglês para Dissimilatory Sulfite Redutase) e pela via do tritionato 15

Figura 7 - Ciclo do Enxofre na Natureza 17

Figura 8 - Ilustração da produção de óxidos de ferro insolúveis. 1 – Precipitação microbiológica de ferro em águas naturais; 2 – Imagem 1 ampliada; 3 - Precipitação microbiológica de ferro em sistemas com alta velocidade de fluxo; 4 – Depósito de óxidos de ferro na parede de uma mina rica em íon ferroso 19

Figura 9 - Fotografias de partes de dutos substituídos pela formação de tubérculos 20

Figura 10 - Mecanismo de oxidação do íon ferroso a íon férrico realizado descrito na espécie de *Acidithiobacillus ferroxidans*. 20

Figura 11 - Formação de áreas anódicas e catódicas pela participação de microrganismos 26

Figura 12 - Formação de uma pilha de aeração diferencial pela deposição de células microbianas causando diferenças de potencial elétrico entre a região abaixo dos microrganismos e o restante da superfície metálica. 27

Figura 13 - Formação de uma célula de concentração de íons no biofilme que acelera a reação catódica pelo consumo da hidroxila na formação de óxidos metálicos 28

Figura 14 - Representação da despolarização catódica mediada pela hidrogenase, que pode atuar na membrana, no espaço periplasmático ou no citoplasma 29

Figura 15 - Corrosão por pites 32

Figura 16 - Imagens da microscopia eletrônica de varredura de biofilme formado em superfícies metálicas 33

Figura 17 - Ilustração da medição das raízes (em mm), considerando desde o início dos cotilédones até a extremidade da radícula 43

Figura 18 - Procedimento de concentração/enriquecimento dos grupos bacterianos de interesse e isolamento das espécies predominantes de bactérias heterotróficas e oxidantes de ferro 46

Figura 19 - Corpos de prova de Aço Carbono AISI 1020 utilizado nos ensaios 49

Figura 20 - Ilustração de uma célula eletroquímica convencional de 3 eletrodos utilizada nos ensaios ... 50

Figura 21 - Ensaio de ecotoxicidade por germinação das sementes de Lactuca sativa L em 5 dias de incubação nos controles positivo (A) e negativo (B) e em diferentes concentrações e proantocianidinas: (C) 1 g/L, (D) 0,5 g/L, (E) 0,25 g/L e (F) 0,12 g/L 58

Figura 22 - Concentração/enriquecimento da amostra de água de sistema de refrigeração de refinaria com histórico de biocorrosão em: (A) crescimento de bactérias heterotróficas totais cultiváveis em caldo nutriente após 24 horas de incubação; (B) crescimento de ferrobactérias em citrato férrico amoniacal após 48 horas de incubação; e (C) crescimento de bactérias redutoras de sulfato (BRS) em Postgate E modificado após 15 dias de incubação 64

Figura 23 - Medições do Potencial em Circuito Aberto no controle (sem adição de proantocianidinas) e em diferentes concentrações de proantocianidinas em solução ao longo de 72 horas de imersão 71

Figura 24 - Curvas de polarização para aço carbono AISI 1020 imerso em solução com diferentes concentrações de proantocianidinas logo após a imersão 72

Figura 25 - Curvas de polarização para aço carbono AISI 1020 imerso em solução com diferentes concentrações de proantocianidinas após 3 horas de imersão 73

Figura 26 - Curvas de polarização para aço carbono AISI 1020 imerso em solução com diferentes concentrações de proantocianidinas após 24 horas de imersão 73

Figura 27 - Curvas de polarização para aço carbono AISI 1020 imerso em solução com diferentes concentrações de proantocianidinas após 48 horas de imersão 74

Figura 28 - Curvas de polarização para aço carbono AISI 1020 imerso em solução com diferentes concentrações de proantocianidinas após 72 horas de imersão 74

Figura 29 - Representação fotográfica dos corpos de prova de aço carbono AISI 1020 após 24 horas de imersão em diferentes concentrações de proantocianidinas 76

Figura 30 - Eficiência de diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco na inibição do aço carbono AISI 1020 ao longo de 72 horas de imersão 80

Figura 31 - Impedância eletroquímica representada pelo diagrama de Bode para aço carbono AISI 1020 imediatamente após imersão em solução de água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco 83

Figura 32 - Impedância eletroquímica representada pelo diagrama de Bode para aço carbono AISI 1020 após 3 horas de imersão em solução de água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco 84

Figura 33 - Impedância eletroquímica representada pelo diagrama de Bode para aço carbono AISI 1020 após 24 horas de imersão em solução de água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco 85

Figura 34 - Impedância eletroquímica representada pelo diagrama de Bode para aço carbono AISI 1020 após 48 horas de imersão em solução de água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco 87

Figura 35 - Impedância eletroquímica representada pelo diagrama de Bode para aço carbono AISI 1020 após 72 horas de imersão em solução de água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco 88

Figura 36 - Eficiência de inibição das proantocianidinas extraídas da fibra do coco nas condições delineadas na matriz do planejamento fatorial para aço carbono AISI 1020 após 24 horas de imersão..... 91

Figura 37 - Diagrama de Pareto considerando a taxa de corrosão como varável de resposta 92

Figura 38 - Diagrama de Pareto considerando a eficiência do inibidor como varável de resposta 92

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Bactérias oxidantes de enxofre quimiotróficas agrupadas conforme fonte de carbono e energia e seus gêneros representativos 18

Quadro 2 - Espécies de bactérias produtoras de ácidos orgânicos 21

Quadro 3 - Meios de cultura usados na análise microbiológica de amostras líquidas e sólidas para a pesquisa dos microrganismos de interesse na biocorrosão 31

Quadro 4 - Descrição dos principais biocidas em uso atualmente 35

Quadro 5 - Descrição dos principais inibidores de corrosão em uso atualmente 37

Quadro 6 - Composição da solução de micronutrientes para os ensaios de ecotoxicidade 42

Quadro 7 - Análises e metodologias aplicadas para a caracterização do fluido de processo 44

Quadro 8 - Soluções diluentes e meios de cultura utilizados para o isolamento e manutenção dos microrganismos 45

Quadro 9 - Composição do Aço Carbono AISI 1020 utilizado nos ensaios 49

Quadro 10 - Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 para avaliação da interferência do pH, temperatura e concentração de proantocianidinas na inibição do aço carbono AISI 1020 em 24 horas de imersão em solução sintética de sistema de refrigeração 54

Quadro 11 - Identificação das espécies predominantes entre as populações de bactérias heterotróficas totais e ferrobactérias isoladas de água de sistema de refrigeração de uma refinaria com histórico de biocorrosão 65

Quadro 12 - Parâmetros eletroquímicos do aço carbono AISI 1020 imediatamente após a imersão em água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco 77

Quadro 13 - Parâmetros eletroquímicos do aço carbono AISI 1020 após 3 horas de imersão em água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco 77

Quadro 14 - Parâmetros eletroquímicos do aço carbono AISI 1020 após 24 horas de imersão em água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco 78

Quadro 15 - Parâmetros eletroquímicos do aço carbono AISI 1020 após 48 horas de imersão em água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco 78

Quadro 16 - Parâmetros eletroquímicos do aço carbono AISI 1020 após 72 horas de imersão em água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco 78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Teste de germinação de sementes de *Lactuca sativa* L para diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco..... 59

Tabela 2 - Teste de alongamento das raízes de *Lactuca sativa* L para diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco..... 60

Tabela 3 - Caracterização físico-química e microbiologia de amostra de água de sistema de refrigeração de refinaria com histórico de biocorrosão 62

Tabela 4 - Concentração mínima inibitória (CMI) das proantocianidinas extraídas da fibra do coco para as espécies/grupo microbiano de interesse na biocorrosão..... 67

Tabela 5 - Respostas da matriz do planejamento fatorial completo 2^3 para avaliação da interferência do pH, temperatura e concentração de proantocianidinas na inibição do aço carbono AISI 1020 em 24 horas de imersão em solução sintética de sistema de refrigeração..... 90

LISTA DE SIGLAS

BRS – Bactérias Redutoras de Sulfato

CMI – Concentração Mínima Inibitória

E_{corr} – Potencial de corrosão

EIE – Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

FTIR - *Fourier-transform infrared spectroscopy* (Espectroscopia de infravermelho)

HPLC - H*igh Performance Liquid Chromatography* (Cromatografia Líquida de Alta Performance)

J_{corr} – Densidade de corrente de corrosão

LPR - *Linear Polarisation Resistance* (Resistência de Polarização Linear)

OCP – *Open Circuit Potential* (Potencial a Circuito Aberto)

PAC – Proantocianidinas

PIB – Produto Interno Bruto

NMP – Número Mais Provável

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 1

2 OBJETIVOS 4

3.1 OBJETIVO GERAL 4

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 4

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 5

3.1 COCO (*Cocos nucifera* L.) 5

3.2 PROANTOCIANIDINAS 6

3.3 CORROSÃO 9

3.3.1 **Custos Relacionados aos Processos Corrosivos** 11

3.3.2 **Biocorrosão** 13

3.3.2.1 Microrganismos Envolvidos na Corrosão Induzida Microbiologicamente 13

3.3.2.1.1 Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS) 13

3.3.2.1.2 Bactérias Oxidantes de Enxofre 17

3.3.2.1.3 Bactérias Oxidantes de Ferro 18

3.3.2.1.4 Bactérias Produtoras de Ácido 21

3.3.2.1.5 Bactérias Produtoras de Exopolissacarídeos 22

3.3.2.1.6 Fungos 24

3.3.2.1.7 Algas 25

3.3.2.2 Mecanismos da Biocorrosão 25

3.3.2.3 Identificação e Monitoramento da Biocorrosão 30

3.3.2.4 Métodos de Prevenção e Controle da Biocorrosão 33

3.4 BIOCIDAS COMERCIAIS 34

3.5 INIBIDORES DE CORROSÃO COMERCIAIS 36

3.6 PRODUTOS NATURAIS BIOATIVOS 38

4. MATERIAIS E MÉTODOS 40

4.1 MATERIAL VEGETAL 40

4.1.1 **Coleta e Identificação** 40

4.1.2 **Preparo do Extrato Aquoso** 40

4.1.3 **Caracterização Química da Fibra do Coco** 40

4.1.4 **Quantificação das Proantocianidinas** 41

4.2 AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDDADE 41

4.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO BIOCIDA DAS PROANTOCIANIDINAS 43

4.3.1 **Amostra de Água de Torre de Resfriamento** 44

4.3.2 **Isolamento e Identificação de Microrganismos de Interesse na Biocorrosão** 44

4.3.2.1 Identificação fenotípica dos microrganismos 47

4.3.2.2 Identificação genotípica dos microrganismos 47

4.3.3 **Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI)** 48
4.4 ATIVIDADE DAS PROANTOCIANIDINAS COMO INIBIDOR DE CORROSÃO..... 48
4.4.1 **Fluido de Processo** 48
4.4.2 **Corpos de Prova** 48
4.4.3 **Aparato Experimental para a Realização dos Ensaios**..... 49
4.4.4 **Análises Eletroquímicas**..... 51
4.4.4.1 Potencial a Circuito Aberto (OCP) 51
4.4.4.2 Resistência de Polarização Linear (LPR) 51
4.4.4.3 Curvas Potenciodinâmicas 52
4.4.4.4 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE) 52
4.4.5 **Ensaio de Avaliação das Proantocianidinas como Inibidor de Corrosão** 52
4.4.6 **Avaliação da Concentração de Proantocianidinas, pH e Temperatura na Inibição da Corrosão**..... 53
4.4.6.1 Análise Estatística 54

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 55
5.1 CARACTERIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DAS PROANOCIANIDINAS 55
5.2 AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE DE PROANTOCIANIDINAS 57
5.3 CARACTERIZAÇÃO DA ÁGUA DE SISTEMA DE REFRIGERAÇÃO..... 61
5.4 OBTENÇÃO DOS MICRORGANISMOS DE INTERESSE NA BIOCORROSÃO..... 64
5.5 DEERMINAÇÃO DA CMI DAS PROANTOCIANIDINAS 67
5.6 AVALIAÇÃO DAS PROANTOCIANIDINAS COMO INIBIDOR DE CORROSÃO..... 70
5.6.1 **Avaliação da influência da concentração de proantocianidinas, pH e temperatura na inibição da corrosão em aço carbono AISI 1020** 89

7. CONCLUSÕES..... 94

8. PERSPECTIVAS FUTURAS 96

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 97

1 INTRODUÇÃO

A adoção de políticas e programas que contemplem o conceito de desenvolvimento sustentável vêm se tornando imperativa para a continuidade da sociedade contemporânea. Nesse contexto, estratégias para o aproveitamento de resíduos sólidos tem despertado grande interesse tecnológico, como, por exemplo, o uso da casca do coco verde para a produção de carvão vegetal, artesanatos e materiais geotêxteis e itens para jardinagem (VELOSO *et al.*, 2013; RODRIGUES, MARTINS e BARROS, 2018).

Muito embora a casca do coco tenha diversas aplicações diretas, ainda é possível exploração da sua composição química pelo seu conteúdo de celulose, hemicelulose e lignina (PRADO *et al*., 2014; VERMA, 2015; SOARES *et al*., 2016; JUIKAR e VIGNESHWARAN, 2017; BOUSFIELD *et al*., 2018). Inclusive, a partir da fração de ligninas podem ser obtidos compostos fenólicos poliméricos, conhecidos como proantocianidinas ou taninos condensados, cuja função biológica é proteger tecidos vegetais contra pragas e infecções. E, até mesmo, já foram descritos por sua atividade biocida, antioxidante e inseticida (CARVALHO *et al*., 2018; CHAI *et al*., 2018; LEKBACH *et al*., 2018; MA *et al*., 2018; SHAO *et al*., 2018).

O coco não é o espécime vegetal com maior teor de proantocianidinas, porém o montante gerado anualmente o torna uma alternativa interessante para a extração dessas moléculas (LIMA *et al*., 2015; PADUMADASA *et al*., 2016). Só no Brasil são produzidas quase 3 milhões de toneladas desse fruto (FAOSTAT, 2016), sendo que apenas 15% é aproveitado industrialmente na forma de polpa, água e óleo (TETRA PAK, 2016). O quantitativo restante, correspondente a casca e a fibra da casca do coco, somam aproximadamente 2,5 milhões de toneladas e, sem a adoção de medidas eficientes de gestão de resíduos sólidos, provocam grande impacto ambiental (BECKER *et al*., 2016; DATAR e SHINDE, 2017).

Dessa forma, estudos que permitam agregar valor ou reduzir a produção de resíduos são cruciais para a preservação ambiental, sustentabilidade e manutenção dos seres vivos na Terra. Nesse contexto, em teoria, as atividades biocida e antioxidante previamente descritas das proantocianidinas as tornam um alvo interessante para nos estudos sobre a inibição dos processos corrosivos (eletroquímicos ou induzidos microbiologicamente) que causam grande impacto em diferentes setores industriais.

A corrosão é um processo natural e espontâneo em que o metal tende a retornar à sua forma mais estável, ou seja, aquela como ele é encontrado na natureza. O ferro (Fe), por

exemplo, é comumente encontrado na natureza na forma de hematita (Fe_2O_3) e a ferrugem, produto formado na corrosão do ferro, tem a mesma composição da hematita, mas em sua forma hidratada ($Fe_2O_3 \cdot nH_2O$).

A espontaneidade do processo corrosivo faz com que constantemente os materiais metálicos tenham suas características afetadas de modo a deixar de satisfazer os fins a que se destinam. Assim, considerando a atual relevância dos metais e suas ligas na vida moderna o estudo do processo de corrosão, bem como suas alternativas de prevenção e controle tem uma importância transcendental nos diversos setores industriais (GENTIL, 2012).

Os dados sobre a corrosão no Brasil não são bem definidos. Entretanto, extrapolando os dados norte-americanos, estima-se que pelo menos 3% do PIB seja gasto na solução de problemas provocados pela corrosão anualmente. Sendo que de 25 a 30% desse valor poderia ser economizado através do uso de métodos eficientes de prevenção e controle da corrosão (NACE, 2012). Portanto, com base nesses dados, o Brasil gasta pelo menos US$ 15 bilhões por ano com corrosão e poderia economizar entre US$ 3 e 5 bilhões se adotasse medidas anticorrosivas eficientes e eficazes.

A indústria petrolífera é uma das que mais investe em pesquisas na área de corrosão, pois possui uma vasta rede de dutos, equipamentos, sistemas de distribuição, resfriamento e plataformas constituídas basicamente de materiais metálicos (LIBOS, 2010; PETROBRAS, 2013; PRABHA *et al*., 2014). Portanto, a ocorrência de processos corrosivos nessas estruturas além de provocar onerosos prejuízos financeiros, também podem causar danos ambientais gravíssimos e, em alguns casos, até irreparáveis (IKECHUKWU e PAULINE, 2015; PAUL, SHAKOOR e MOHAMED, 2015).

Os processos corrosivos podem ser provocados por mecanismos eletroquímico, químico ou eletrolítico. O primeiro é o mais comum e é gerado a partir da diferença de potencial elétrico formando uma pilha, promovendo a dissolução metálica, liberando íons positivos no meio e degradando o material, deixando-o impróprio para uso. Os outros mecanismos também inutilizam os materiais metálicos seja pelo ataque químico ao metal (corrosão química) ou pela imposição de corrente elétrica (mecanismo eletrolítico). Vale ressaltar que a corrosão eletroquímica pode envolver a participação de microrganismos promovendo ou intensificando o processo corrosivo (MAAB; PEIBKER, 2011; GENTIL, 2012; LOTO, 2017).

Dessa forma, considerando os riscos associados à corrosão, é imprescindível a adoção de medidas de prevenção e controle, que variam de acordo com a estrutura metálica e o sistema

a ser protegido. Como, por exemplo, em sistemas de resfriamento, onde é comum a aplicação de compostos com efeito biocida a fim de evitar o desenvolvimento de microrganismos sésseis e planctônicos e inibidores de corrosão capazes de inibir as reações anódicas e catódicas ou formar filmes protetores na superfície metálica (GENTIL, 2012; LIENGEN et al., 2014).

Logo, a busca por moléculas que apresentem alta eficiência em baixas concentrações com pouco ou nenhum efeito tóxico ao meio ambiente são os novos desafios do mundo contemporâneo, principalmente em relação aos biocidas uma vez que frequentemente os microrganismos adquirem novos mecanismos de resistência (VARJANI et al., 2017). Inclusive, têm-se obtido resultados promissores não só com compostos sintéticos, mas também com moléculas extraídas de materiais vegetais ou produzidas por microrganismos (TANNER, VILANOVA e PORCAR, 2017).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo tem por objetivo avaliar o potencial de proantocianidinas extraídas da fibra do coco (*Cocos nucifera* L.) como biocida e inibidor de corrosão para aço carbono AISI 1020 em solução sintética de fluido de sistema de refrigeração.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Construir uma curva-padrão com um extrato comercial liofilizado de proantocianidinas oriundas de *Schinopsis lorentzii* para a quantificação de proantocianidinas extraídas da fibra do coco em solução;
- Confirmar a aplicabilidade do modelo gerado pela curva-padrão construída para a quantificação de proantocianidinas;
- Analisar a ecotoxicidade das proantocianidinas pelo teste de germinação e de alongamento das raízes utilizando sementes de *Lactuca sativa*;
- Caracterizar a amostra de água de sistema de refrigeração com histórico de corrosão, para formular a solução sintética aplicada nos ensaios;
- Obter culturas enriquecidas de bactérias de interesse na biocorrosão (bactérias heterotróficas, oxidantes de ferro e redutoras de sulfato cultiváveis) a partir de água de sistema de refrigeração e correlacionar seus parâmetros microbiológicos e físico-químicos;
- Identificar as espécies predominantes em cada grupo microbiano;
- Determinar a concentração mínima inibitória (CMI) das proantocianidinas extraídas da fibra do coco para os grupos microbianos isoladamente;
- Verificar o potencial uso das proantocianidinas como inibidor de corrosão para aço carbono AISI 1020 em pH neutro em função do tempo e da concentração;
- Estudar a influência da temperatura, pH e concentração das proantocianidinas na corrosão do aço carbono AISI 1020;

3 REVISÃO BIBLOGRÁFICA

3.1 COCO (*Cocos nucifera* L.)

O coqueiro é um espécime vegetal que pode atingir até 20 m de altura e de 20 a 35 cm de diâmetro, possui flores pistiladas com sépalas que geram um fruto grande, arredondado, com mesocarpo espesso que protege a polpa e a água de seu interior (LORENZI *et al.*, 2010).

O coco é um fruto amplamente consumido e cultivado nos países tropicais, o Brasil é o 4º produtor mundial de coco, com produção anual de quase 3 milhões de toneladas cultivadas em quase 260 mil hectares (MARTINS, 2014; FAOSTAT, 2016). Entre os principais produtores mundiais de coco o Brasil é o que apresenta maior produtividade na relação toneladas/hectares (t/ha) cultivados, com mais de 10.000 toneladas/hectares, enquanto os demais produtores apresentam valor médio de 5.000 t/ha (MARTINS, 2014).

O último levantamento, feito em 2014, mostra que o coco é produzido em quase todos os estados brasileiros. A região nordeste é a principal responsável pela produção, com mais de 200.000 ha cultivados, sendo quase metade dessa área localizada no estado da Bahia (MARTINS, 2014). Em média, um coqueiro inicia sua produção após 5-7 anos de idade e se mantém produtivo até 70 anos, e, a colheita dos frutos pode ser feita a partir de 10 meses após o início de sua floração (CINTRA *et al.*, 2010).

A exploração comercial do coco se dá principalmente para a extração da água e da polpa (endocarpo) do coco. Para a produção da água do coco, é fita a colheita do coco ainda verde, imaturo, com aproximadamente 6 meses de idade, pois nesse interim há o maior rendimento da água e o sabor mais agradável ao consumidor. E, para a extração do óleo e da polpa é feita a colheita do coco, em plena maturação, com pelo menos 11 meses de idade, no qual o endocarpo está bem espesso e o volume de água reduzido (MARTINS, 2014).

Basicamente três variedades de coqueiro (*Cocos nucifera* L.) são cultivados no Brasil, o gigante, mais voltado para a produção de coco seco, o anão, usado principalmente para produção de água de coco, e híbridos resultantes de cruzamentos entre o coqueiro-gigante e coqueiro-anão, que atendem as duas vertentes industriais (CINTRA *et al.*, 2010).

Entretanto, no máximo 20% dessa fruta é utilizada no consumo humano, seja *in natura* ou processado pela indústria de alimentos (TETRA PAK, 2016). Dessa maneira, aproximadamente 2,5 milhões de toneladas são descartadas referentes a casca e fibra, tornando-

se um grande problema ambiental já que normalmente ele é disposto de forma incorreta na natureza

Muito embora esse resíduo sólido possa ser convertido inteiramente em matéria prima para materiais geotêxteis, adubo, carpetes, artesanatos ou energia térmica, na forma de carvão, a taxa de reciclagem desse material no Brasil não chega a 30% (VELOSO *et al.*, 2013; DATAR e SHINDE, 2017; RODRIGUES, MARTINS e BARROS, 2018).

Além da aplicação direta, a fibra do coco pode ter a sua composição química explorada, pois contém aproximadamente 40, 25 e 12% de lignina, celulose e hemicelulose, respectivamente (LIMA *et al.*,2015). As frações de celulose e hemicelulose podem ser usadas como matéria-prima para a produção de etanol de 2ª geração (SOARES *et al.*, 2016). E, a fração lignina, pode ser usada como fonte de compostos fenólicos poliméricos também conhecidos como taninos condensados usados frequentemente na indústria pela sua ação antioxidante e floculante (MA e ZHANG, 2017).

As proantocianidinas extraídas da fibra do coco correspondem a aproximadamente 25% da fração de lignina (MARTINS, 2016). O coco não está entre os espécimes vegetais com maior teor de proantocianidinas, entretanto dado ao montante de onde essas moléculas podem ser extraídas, a fibra do coco se torna uma alternativa interessante (HEMINGWAY e LAKS, 1992; MANFROI *et al.*, 2009; VENTER *et al.*, 2012a; VENTER *et al.*, 2012b; BRIGIDA e ROSA, 2003; REBAYA *et al.*, 2014; WÜRGER, MCGAW e ELLOF, 2014; BHAGWAT e HAYTOWITZ, 2015).

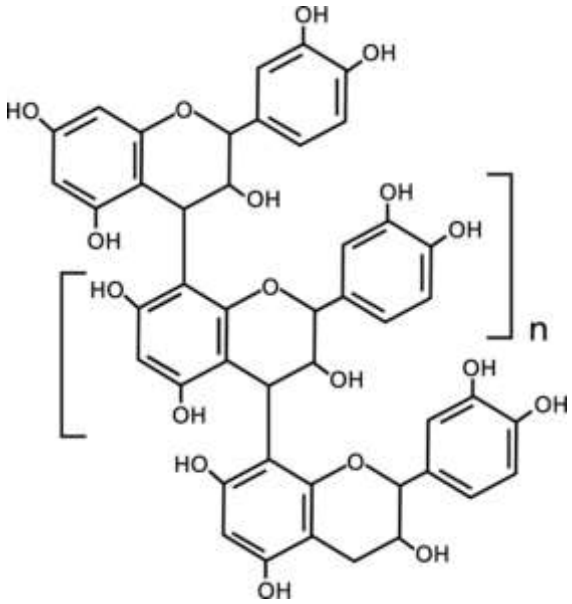
3.2 PROANTOCIANIDINAS

As proantocianidinas são polímeros de flavan-3-óis, um tipo flavonoide, com estrutura variável e podem, também, serem conhecidas como taninos condensados ou poliflavanas (COSTA e LEÃO, 2010). Essas moléculas estão presentes em todos os tecidos vegetais, entretanto são encontradas em maiores concentrações nos tecidos externos, pois tem papel fundamental na proteção da planta (BARBEHENN e CONSTABEL, 2011).

Esses polifenóis são metabólitos produzidos pela via dos flavonoides e armazenados em vacúolos de modo a evitar seu contato com as enzimas participantes do metabolismo vegetal. Afinal, as proantocianidinas interagem com as proteínas e enzimas celulares, precipitando-as,

inibindo as funções celulares e, consequentemente, levando a morte celular. Por isso sua importância em maior quantidade nos tecidos que revestem a planta (JONKER e YU, 2017).

Os compostos fenólicos poliméricos são classificados em diferentes grupos, dentre eles os flavonoides, que ainda se dividem em outros subgrupos no qual as proantocianidinas estão inseridas (FINE, 2000). A estrutura dessas moléculas varia de acordo com a espécie vegetal e as condições de cultivo tanto na composição química quanto no grau de polimerização, conforme ilustrado na Figura 1 (YOSHIDA *et al.*, 2011; VENTER *et al.*, 2012; JONKER e YU, 2017; NAVARRO *et al.*, 2017).



Fonte: YOSHIDA *et al.*, 2011.

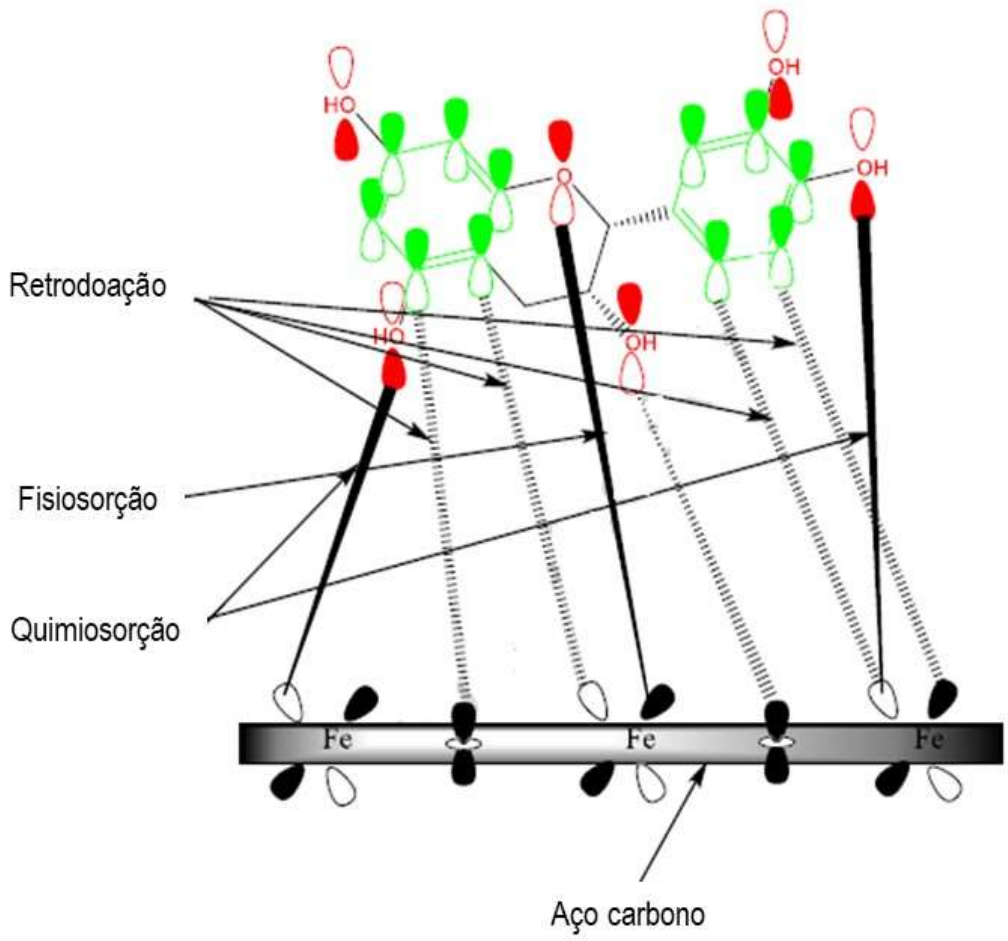
Figura 1 – Estrutura oligomérica das proantocianidinas.

Como pode ser observado na Figura 1, a presença de várias hidroxilas nas moléculas de proantocianidinas favorece a sua interação com outras moléculas, que quanto maior o grau de polimerização, maior esse poder reativo (YOSHIDA *et al.*, 2011). Essa estrutura lhes confere a capacidade de atuação como antioxidante, biocida e inseticida fundamentais para a preservação e manutenção das espécies vegetais na natureza (MA *et al.*, 2018).

Essas características tornam as proantocianidinas moléculas de excelente potencial biotecnológico, podendo ser aplicado no controle de pragas e infecções na agricultura, pois a capacidade de precipitação de proteínas já demonstrou atividade para a eliminação de

microrganismos e insetos (ASHRAF *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2016; MAAZOUM *et al.*, 2017; MA *et al.*, 2018).

Ademais, essa grande disponibilidade de radicais permite a interação com superfícies metálicas formando um filme protetor, conforme é ilustrado na Figura 2, na qual as hidroxilas interagem com a superfície metálica por diferentes mecanismos evitando a dissolução metálica (SAXENA *et al.*, 2018).



Fonte: SAXENA *et al.*, 2018

Figura 2 – Mecanismo de ação proposto para a inibição da corrosão do aço por compostos fenólicos de origem vegetal.

Nesse contexto, as proantocianidinas são moléculas com grande potencial para aplicações em campo nas mais diversas áreas. Vale ressaltar que essas moléculas já são amplamente usadas em escala industrial no processamento de couros, principalmente pela sua atuação como agente floculante. Porém, essas moléculas, devido sua variabilidade estrutural, são altamente versáteis e alvos interessantes para estudos de bioprospecção.

3.3 CORROSÃO

Todos os materiais sofrem desgastes físicos em função do tempo de uso. E, materiais metálicos, borrachas, concreto, polímeros, madeira, entre outros, ainda podem sofrear ação de processos corrosivos que contribuam para esse desgaste (MAAB; PEIBKER, 2011; GENTIL 2012). O conceito de corrosão é um ponto de divergência os autores (MAAB; PEIBKER, 2011; GENTIL, 2012; LOTO, 2017), de modo que nesse trabalho será adotada a definição segundo Gentil (2012):

> [...] pode-se definir corrosão como a deterioração de um material, geralmente, metálico por ação química ou eletroquímica do meio ambiente associada ou não à esforços mecânicos.

Ainda segundo Gentil (2012), a interação física entre um material e o ambiente resulta em alterações indesejáveis, tais como desgaste, modificações químicas e estruturais, tornando o material impróprio para uso. Todavia, o processo corrosivo pode, ainda, estar relacionado a fatores biológicos (LIENGEN et al., 2014).

De qualquer modo, com ou sem a participação de organismos vivos, a corrosão é um processo espontâneo que permite que os elementos constituintes dos materiais retornem à forma termodinamicamente estável, ou seja, na forma de óxidos e/ou sulfetos, como normalmente se encontram na natureza, na forma de minérios. Na Figura 3 tem-se a representação do ciclo da corrosão, mostrando que o processo corrosivo é o inverso do processo siderúrgico. Isto ratifica a importância da adoção de medidas preventivas e/ou corretivas a fim de evitar e/ou controlar os processos corrosivos (GENTIL, 2012).

A ação do ambiente sobre a corrosão do material pode ocorrer de três modos, o que permite classificar o processo em: eletroquímico, químico e eletrolítico. A corrosão eletroquímica é a mais comum e ocorre na superfície de um material em contato com um eletrólito (geralmente aquoso) de modo que se estabelece uma diferença de potencial elétrico mediada pelo contato de materiais diferentes ou expostos a condições ambientais distintas (GENTIL, 2012; ROBERGE, 2012).

Particularmente, a corrosão galvânica é um processo eletroquímico que ocorre pelo contato elétrico entre dois metais imersos em um eletrólito, ou, ainda, um mesmo metal com diferenças na sua composição, estabelecendo diferenças de potencial elétrico e, consequentemente, formando uma pilha (TAIT, 2018). Normalmente, quando um metal é

imerso em água trata-se de um processo galvânico (GENTIL, 2012). Portanto, pode-se inferir que a corrosão galvânica é um dos fenômenos espontâneos mais comuns na deterioração dos materiais metálicos expostos ao meio ambiente, como é o caso de sistemas operacionais, reservatórios e tubulações enterrados, submersos ou superficiais expostos às variações climáticas (TAIT, 2018).

Figura 3 – Ciclo da Corrosão (Fonte: http://micorr.org/scientific-bases; Adaptado)

O fenômeno eletroquímico envolve o estabelecimento de áreas anódicas e catódicas, onde ocorrem as reações de oxidação e redução, respectivamente. As reações de oxidação envolvem a perda de elétrons pelo metal e, consequentemente, a dissolução iônica e perda de material metálico. Enquanto que as reações de redução ocorrem em decorrência do ganho de elétrons das espécies químicas presentes na superfície da região catódica, em geral, são as moléculas de água que são reduzidas (MAAB; PEIBKER, 2011; GENTIL, 2012; TAIT, 2018).

Em suma, o processo eletroquímico consiste em uma série de reações que ocorrem na superfície do metal, e que dependem de quatro componentes básicos: (1) o eletrólito, que atua como meio condutor; (2) o anodo, onde ocorre a reação de oxidação (corrosão propriamente dita), com a dissolução de íons metálicos positivos; (3) o catodo, no qual as espécies químicas em contato com a superfície metálica são reduzidas; (4) o circuito metálico, formado pela

interação entre o anodo e o catodo, através do qual os elétrons escoam no sentido anodo → catodo. Vale ressaltar que a frequência e a velocidade dessas reações estão intimamente ligadas aos materiais metálicos envolvidos e ao meio em que eles estão inseridos. Todavia, qualquer interrupção do fluxo de elétrons entre anodo e catodo resulta na descontinuidade do processo corrosivo (GENTIL, 2012).

Nos casos de corrosão eletrolítica, a variação de potencial elétrico ocorre pela interferência de potenciais elétricos externos. Materiais metálicos enterrados, como oleodutos, gasodutos, redes adutoras, minerodutos e cabos telefônicos são comumente afetados por esse tipo de corrosão. Normalmente, esse processo se dá em virtude de correntes elétricas de interferência, também conhecidas como correntes de fuga, que são correntes elétricas de sentido convencional, que abandonam seu circuito normal e fluem pelo solo ou pela água. Após atingirem os materiais metálicos enterrados ou submersos essas correntes retornam para o seu circuito de origem (GENTIL, 2012).

Diferentemente das duas classificações de corrosão apresentadas anteriormente, a corrosão química ocorre pelo ataque direto de um agente químico ao material, metálico ou não, e não envolve transferência de elétrons. Nesses casos, o contato o contato do agente químico com o material gera produtos de corrosão, deteriorando o material, inutilizando-o. Pode-se citar como exemplos de corrosão química as ligas metálicas a base zinco em contato com ácido sulfúrico formando sulfato de zinco e H_2, que ainda pode provocar a sensibilização do material pelo empolamento[1] (GENTIL, 2012; POPOV, 2015).

Independentemente do tipo de corrosão que acometa os materiais, metálicos ou não, estes são deteriorados e, em alguns casos, inutilizados gerando custos diretos e indiretos pela necessidade de interrupção de processos e substituição de materiais. E, muitas vezes, esses custos poderiam ser reduzidos pela adoção de medidas de prevenção e controle.

3.3.1 Custos Relacionados aos Processos Corrosivos

Os custos gerados pela corrosão são divididos em diretos e indiretos. As perdas diretas consideram os custos com a substituição de peças e equipamentos, incluindo energia e mão de obra, e a manutenção dos processos de proteção, tais como revestimento e proteção catódica. Por outro lado, as perdas indiretas representam os custos com as perdas de produtos, causadas

[1]O Hidrogênio em seu estado atômico apresenta grande capacidade de difusão na estrutura dos materiais metálicos, modificando-a e fragilizando-a, esse fenômeno é chamado de empolamento.

por vazamentos, paralizações para a limpeza e substituição de peças deterioradas e a redução da eficiência do processo e a contaminação com produtos de corrosão (SHMITT, 2009; GENTIL, 2012; NACE, 2012; ABRACO, 2015).

Segundo os dados da Organização Mundial de Corrosão (WCO – *The World Corrosion Organization*), a corrosão onera anualmente aproximadamente US$ 2,2 trilhões, representando cerca de 3% do PIB mundial, e mais da metade desse valor (± US$ 1,5 trilhão) corresponde às perdas diretas (HAYS, 2009; SCHMITT, 2009; NACE, 2012; ABRACO, 2015).

Os dados do custo da corrosão no Brasil não são bem definidos, entretanto acredita-se que estejam próximos ao padrão internacional (entre 3 e 5% do PIB). Portanto, estima-se que esses gastos possam atingir até US$ 90 bilhões, dos quais até 30% poderiam ser economizados com métodos de prevenção e controle (ABRACO, 2015).

Os estudos a respeito dos custos associados à corrosão são bem delineados nos Estados Unidos, onde são divididos 5 setores afetados pela corrosão, como pode ser observado na Figura 4. E, essas informações podem ser extrapoladas para compreender a distribuição dos custos da corrosão no Brasil.

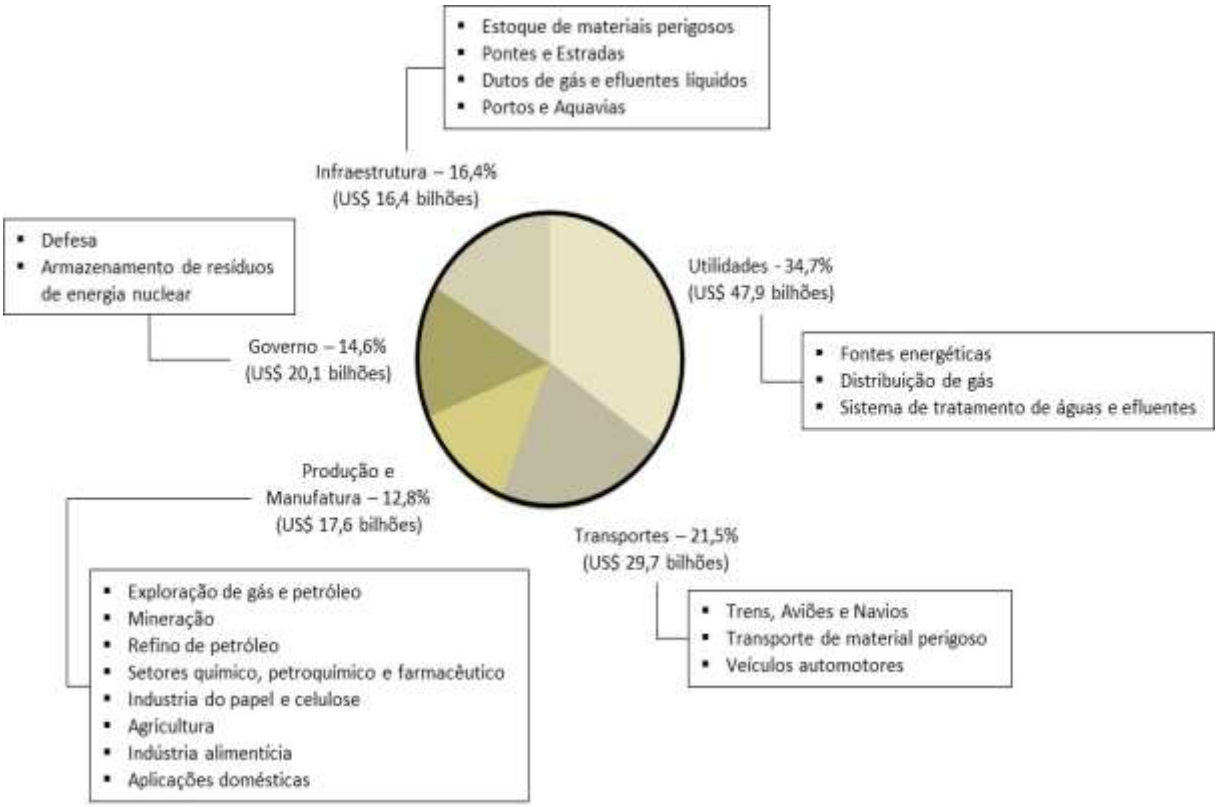


Figura 4 – Custos com corrosão de cinco setores da indústria dos Estados Unidos. Fonte: KOCH; BRONGERS e THOMPSON, 2002. Adaptado.

3.3.2 Biocorrosão

A processo eletroquímico de dissolução metálica promovido ou intensificado pela ação de microrganismos é denominado biocorrosão, corrosão microbiológica, corrosão induzida microbiologicamente (CIM) ou corrosão microbiana. Em geral, as bactérias são os principais agentes da biocorrosão, mas é reconhecida a participação de fungos e algas (VIDELA, 2003; VIDELA; HERRERA, 2005; GENTIL, 2012; LIENGEN et al., 2014).

Em termos físico-químicos e termodinâmicos, a biocorrosão pode ser definida como o processo eletroquímico de dissolução metálica iniciado ou acelerado por microrganismos. Esse efeito pode ser promovido pela aderência de uma única célula ou pela formação de uma complexa estrutura microbiana formada na superfície do material, denominada por biofilme (VIDELA, 2003; DHANASEKARAN, 2016).

3.3.2.1 Microrganismos Envolvidos na Corrosão Induzida Microbiologicamente

A biocorrosão pode ser induzida pela formação de biofilme ou pela produção de metabólitos corrosivos. Assim, pode-se dizer que qualquer microrganismo é potencialmente indutor da biocorrosão, sendo o processo mais significativo quando envolve as bactérias redutoras de sulfato, oxidantes de enxofre, oxidantes de ferro, produtoras de exopolissacarídeos e produtoras de ácido, e, com menor impacto fungos e algas, como será discutido a seguir.

3.3.2.1.1 Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS)

As espécies que apresentam a capacidade de utilizar o sulfato como aceptor final de elétrons na sua cadeia respiratória, produzindo a sulfeto integram o grupo das bactérias redutoras de sulfato e representam o principal grupo microbiano associado à biocorrosão. No ciclo do enxofre (Figura 5), o sulfato ainda pode ser reduzido formando compostos orgânicos ou enxofre elementar pelos microrganismos, mas a interferência dessas reações nos processos de corrosão é menor (BARTON, 1995).

A redução do enxofre pode ocorrer por duas vias, a assimilatória e a dissimilatória, conforme é apresentado na Figura 5. Quando o sulfato ou o enxofre elementar é usado como aceptor final de elétrons, o microrganismo usa a via de redução dissimilatória de sulfato e produz sulfeto, enquanto que, quando ele é usado como fonte de enxofre, a bactéria utiliza a via de redução assimilatória de sulfato, produzindo sulfetos orgânicos com função no metabolismo

celular (PECK, 1961; POSTGATE, 1965; HAMILTON, 1985; BARTON, 1995; VIDELA, 2003).

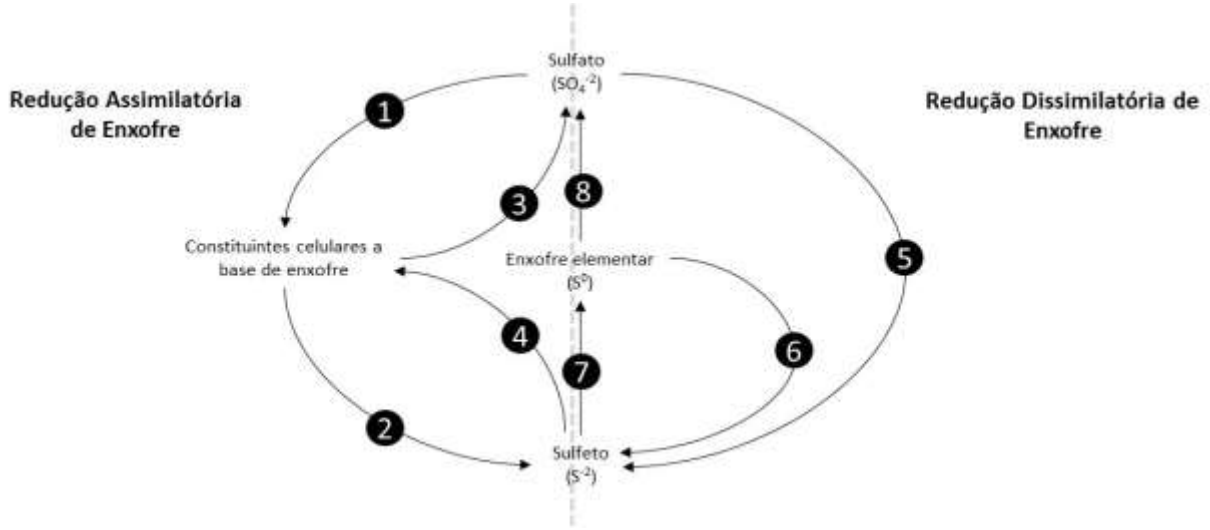


Figura 5 – Vias de redução e oxidação do enxofre na natureza (BARTON, 1995, adaptado).

A via assimilatória ocorre pela incorporação do sulfato nos constituintes celulares, principalmente, nos aminoácidos cisteína, cistina e metionina e fatores de crescimento como tiamina, ácido lipóico, biotina (Figura 5-1). Após a morte das células esses compostos sulfurados são transformados em sulfeto (Figura 5-2) ou retornam à sulfato (Figura 5-3) pelos microrganismos decompositores. Há ainda bactérias capazes de assimilar sulfeto como fonte de enxofre para seus constituintes celulares, mas nesse caso elas são chamadas de bactérias oxidantes de enxofre (Figura 5-4), que serão discutidas no item 3.3.1.1.2.

Em contrapartida, a via dissimilatória do enxofre envolve a redução do sulfato (Figura 5-5) ou do enxofre elementar (Figura 5-6) em sulfeto ao final da cadeia respiratória, utilizando-os como aceptor final de elétrons. E, o sulfeto volta às formas de enxofre elementar (Figura 5-7) e sulfato (Figura 5-8) por ação das bactérias oxidantes de enxofre (Item 3.3.1.1.2).

A compreensão do mecanismo de redução do sulfato a sulfeto (Figura 5-5) tem sido melhor estudado nas espécies pertencentes ao gênero *Desulfovibrio* (Figura 6). Esse gênero sintetiza a enzima sulfito redutase dissimilatória (em inglês *Dissimilatory Sulfite Redutase - DSR*) converte diretamente o sulfito em sulfeto. Entretanto, há relatos de que em outras espécies de BRS essa redução ocorra pela via do Tritionato, quando o sulfito é convertido a sulfeto em 3 reações de redução (PECK, 1965; BARTON, 1995; BARTON; FAUQUE, 2009).

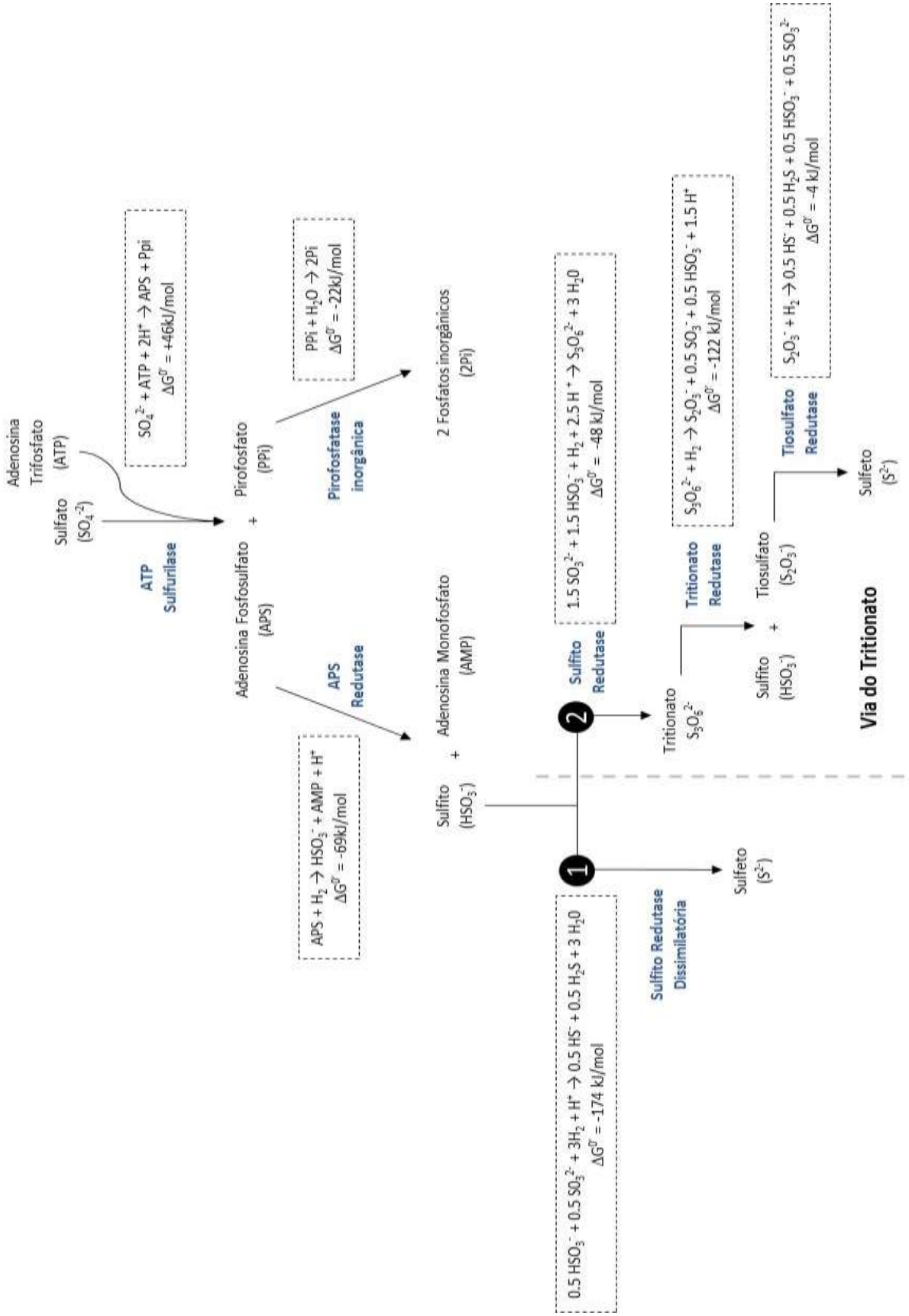


Figura 6 – Sequência de reações de redução do sulfato a sulfeto pela ação da enzima DSR (sigla em inglês para *Dissimilatory Sulfite Redutase*) e pela via do tritionato (Fonte: PECK, 1965; BARTON, 1995; BARTON; FAUQUE, 2009, adaptado).

A Figura 6 representa toda a via de conversão do sulfato em sulfeto. Entretanto, vale ressaltar que o início da sequência de reações depende do gasto de uma molécula de ATP (adenosina trifosfato). A molécula de ATP é degradada pela enzima ATP Sulfurilase que retira dois grupamentos fosfato (Pirofosfato inorgânico) e acrescenta o íon sulfato à molécula de AMP (adenosina monofosfato) formando a molécula de adenosina fosfosulfato (APS, sigla em inglês de *adenosine phosphosulfate*) (PECK, 1959; GAVEL et al., 1998; BARTON; FAUQUE, 2009).As reações seguintes podem ocorrer de forma espontânea como também serem mediadas por enzimas, entretanto, vale ressaltar que a reposição energética só ocorre na última etapa, seja por ação da enzima DSR ou pela via do Tritionato, produzindo pelo menos duas moléculas de ATP com a redução de seis elétrons (BARTON; FAUQUE, 2009).

A via dissimilatória de enxofre é a mais importante do ponto de vista da corrosão por dois motivos: o sulfeto é um composto altamente corrosivo, levando à formação de sulfeto de ferro, com os íons ferro liberados pelo ataque ao metal; e muitas espécies de BRS sintetizam a enzima hidrogenase, que oxida o próton de hidrogênio promovendo o efeito da despolarização catódica, levando a uma maior atividade na região anódica, intensificando o processo corrosivo (POSTGATE, 1965; HAMILTON, 1985; BARTON, 1995; VIDELA, 2003). As hidrogenases podem ser proteínas de membrana ou serem encontradas no espaço periplasmático ou no citoplasma e dividem-se em três grupos de acordo com a presença de metais em seus sítios ativos: Níquel-Ferro hidrogenase, Ferro hidrogenase e um terceiro, sem a dependência de metais. Os dois grupos de hidrogenases formados por metaloproteínas constituem a maior parte das hidrogenases (PETERS *et al.*, 2015).

O grupo das bactérias redutoras de sulfato é heterogêneo do ponto de vista metabólico, pois podem usar outros compostos, além do sulfato, como aceptor final de elétrons (nitrato, fumarato e piruvato). E, ainda usar diferentes compostos orgânicos como fontes de carbono: lactato, piruvato, acetato, maleato, propionato e ácidos graxos. Ressalta-se que não são todas as espécies do grupo que utilizam todos os compostos orgânicos citados como fonte de carbono e aceptores finais de elétrons. Por exemplo, a espécie *Desulfovibrio sapovorans* usa ácido graxo como fonte de carbono, enquanto que a espécie *Desulfovibrio propionicus* só se desenvolve na presença de propionato. Neste contexto, é comum que os estudos que tratam de biocorrosão sejam utilizados mais consórcios microbianos do que espécies isoladas, pois uma comunidade microbiana estruturada permite que o metabolismo de cada uma das espécies coopere com as demais em prol da sobrevivência individual (POSTGATE, 1965; BARTON, 1995; VIDELA, 2003; PLUGGE *e al.*, 2011; GUAN *et al.*, 2016).

3.3.2.1.2 Bactérias Oxidantes de Enxofre

As bactérias oxidantes de enxofre se caracterizam pela oxidação do enxofre com a geração de ácido sulfúrico e sulfato, e seu maior representante na biocorrosão são as espécies do gênero *Acidithiobacillus* (TANG; BASKRAN; NEMATI, 2009; POKORNA; ZABRANSKA, 2015). Essas bactérias, juntamente com as redutoras de enxofre, compõem o ciclo do enxofre na natureza, o qual é sumarizado na Figura 7.

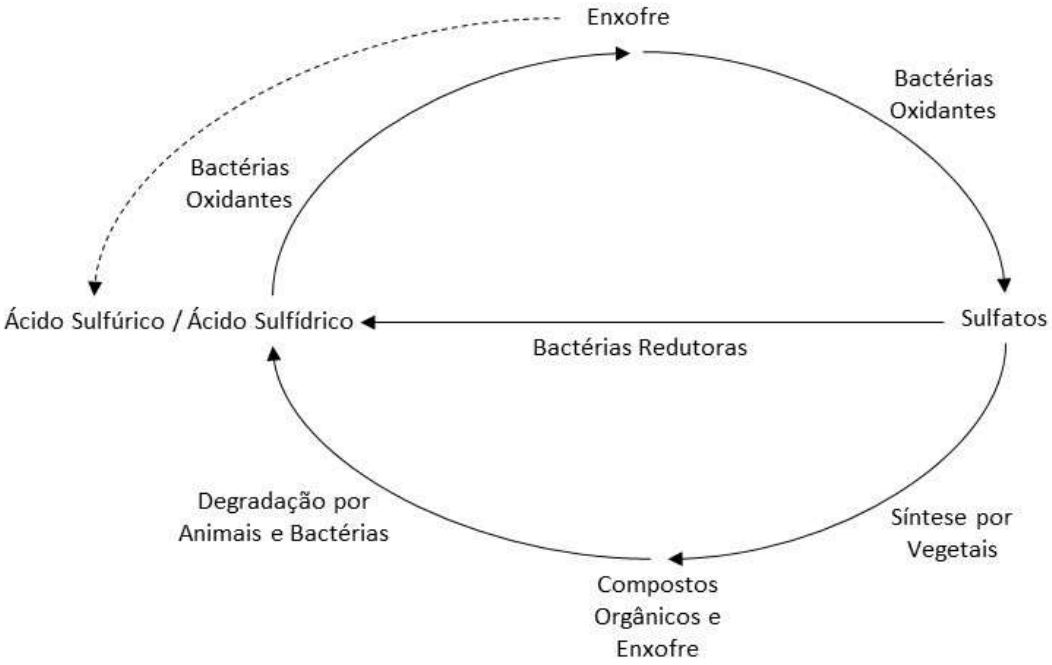


Figura 7 – Ciclo do Enxofre na Natureza (Fonte: VIDELA, 2003, adaptado)

A oxidação biológica do enxofre pode mediada por espécies fototróficas, quimiotróficas ou denitrificantes (MUYZER e STAMS, 2008). As espécies fototróficas dependem da luz como fonte de energia, e convertem ácido sulfídrico em enxofre elementar. Porém, se a concentração de ácido sulfídrico for menor que a disponibilidade de luz ele é convertido em sulfato. Muito embora as espécies desse grupo sejam eficientes oxidando o ácido sulfídrico, tais organismos apresentam metabolismo lento e baixa taxa de crescimento. Os principais representantes dessa categoria são os gêneros *Chlorobium*, *Chloroherpeton*, *Prosthecochloris*, *Pelodictyon* e Ancalochloris (POKORNA e ZABRANSKA, 2015).

Por outro lado, o grupo das espécies quimiotróficas pode usar fontes orgânicas e inorgânicas de carbono. Além disso, podem utilizar compostos de enxofre inorgânicos reduzidos (ácido sulfídrico, tiossulfato, sulfito e enxofre elementar) ou, ainda, compostos

orgânicos (metanotiol, dimetil sulfeto e dimetil dissulfeto) como fonte de energia (TANG; BASKRAN; NEMATI, 2009; POKORNA; ZABRANSKA, 2015). As bactérias quimiotróficas oxidantes de enxofre podem ser divididas em quatro grupos de acordo com a fonte de carbono e energia que são capazes de assimilar, conforme é sumarizado no Quadro 1.

Quadro 1 – Bactérias oxidantes de enxofre quimiotróficas agrupadas conforme fonte de carbono e energia e seus gêneros representativos

Bactérias	Fonte de Carbono	Fonte de Energia	Gêneros
Aeróbias obrigatórias	CO_2	Compostos de Enxofre inorgânico	*Acidithiobacillus* *Thiomicrospira*
Facultativas	CO_2 e Compostos orgânicos	Compostos de Enxofre orgânico e inorgânico	*Paracoccus* *Acidithiobacillus* *Thermotrix*e *Sulfolobus*
Oxidantes de fontes de enxofre reduzido	CO_2 e Compostos orgânicos	Compostos de Enxofre reduzido	*Beggiatoa* *Acidithiobacillus*
Sem ganho de energia pela oxidação do enxofre	CO_2 e Compostos orgânicos	-	*Thiobacterium Thiothrix*

Fonte: TANG; BASKRAN; NEMATI (2009); POKORNA; ZABRANSKA (2015).

As bactérias quimiotróficas capazes de oxidar as formas inorgânicas reduzidas de enxofre utilizando nitritos e nitratos como aceptor final de elétrons, são chamadas de denitrificantes, e, apresentam sulfatos, nitritos ou gás nitrogênio como produtos finais (TANG; BASKRAN e NEMATI, 2009).

Outro risco associado às bactérias oxidantes de enxofre é a criação de um ambiente favorável às bactérias redutoras de sulfato (BRS), pois a coexistência desses dois grupos cria um ciclo de oxidação e redução do enxofre produzindo compostos corrosivos capazes de atacar os materiais metálicos presentes (VIDELA, 2003; TANG; BASKRAN e NEMATI, 2009; POKORNA e ZABRANSKA, 2015).

3.3.2.1.3 Bactérias Oxidantes de Ferro

As bactérias oxidantes de ferro também são chamadas de ferrobactérias ou bactérias precipitantes de ferro. As espécies desse grupo se caracterizam pela capacidade de oxidar íons Fe^{2+} em Fe^{3+}, formando compostos insolúveis que se precipitam e se acumulam nas superfícies

em contato com o fluido (VIDELA, 2003; EMERSON; FLEMING; MCBETH, 2010; HEDRICH; SCHLÖMANN; JHONSON, 2011; FLEMING et al., 2014).

A Figura 8 o efeito causado pelas bactérias oxidantes de ferro na formação de ferrugem (Fe_2O_3, produto formado pela oxidação do ferro) em águas naturais (Figura 8-1 e 6-2), em sistemas formados com aço carbono (Figura 8-3) ou na parede de uma mina de extração de ferro (Figura 8-4).

Figura 8 – Ilustração da produção de óxidos de ferro insolúveis. 1 – Precipitação microbiológica de ferro em águas naturais; 2 – Imagem 1 ampliada; 3 - Precipitação microbiológica de ferro em sistemas com alta velocidade de fluxo; 4 – Depósito de óxidos de ferro na parede de uma mina rica em íon ferroso (Fonte: EMERSON; FLEMING; MCBETH, 2010)

A precipitação do íon férrico na forma de hidróxidos insolúveis pode levar a formação de tubérculos (Figura 9) criando pilhas de aeração diferencial, promovendo a corrosão, ou a obstrução e entupimento do sistema. É importante salientar que a obstrução do sistema reduz a velocidade do fluido favorecendo a deposição de microrganismos e, consequentemente, a formação de um biofilme (VIDELA, 2003; GENTIL, 2012).

As bactérias oxidantes de ferro são quimiotróficas aeróbias ou facultativas. Contudo, há relatos na literatura de espécies fototróficas, como, por exemplo, *Rhodovulum iodosum* e *R. robiginosus* que utilizam o ferro como agente redutor do CO_2 durante o processo de assimilação do carbono. Em complemento, *Acidithiobacillus denitrificans* utilizam o íon ferroso como doador de elétrons e o íon nitrato como aceptor final (HEDRICH; SCHLÖMANN; JHONSON, 2011; GENTIL, 2012).

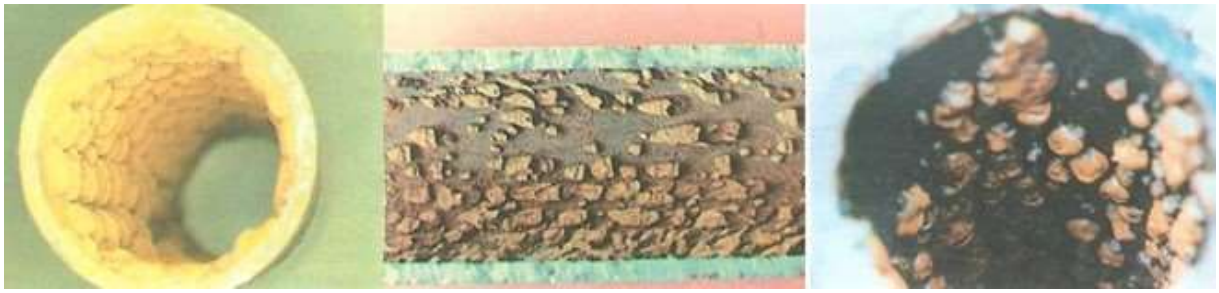


Figura 9 – Fotografias de partes de dutos substituídos pela formação de tubérculos (fonte: GENTIL, 2012)

A espécie mais estudada dentro desse grupo é a *Gallionella ferruginea*, isolada pela primeira vez em 1837, tornando-se a primeira espécie descrita pela capacidade de oxidar Fe^{2+}. Atualmente, outros organismos são consideradas igualmente importantes por estarem relacionadas à bicorrosão, tais como membros do gênero *Siderophacus*, *Leptothrix*, *Chrenothrix*, *Clonothrix* e *Sphhaerotilus* (VIDELA, 2003; EMERSON; FLEMING; MCBETH, 2010; HEDRICH; SCHLÖMANN; JHONSON, 2011; GENTIL, 2012; FLEMING et al., 2014).

O mecanismo de oxidação do ferro por essas bactérias ainda não é muito conhecido, mas acredita-se estar baseado no mecanismo do *A. ferrooxidans*, cuja reação ocorre na superfície da membrana celular, mediada por um conjunto de quatro proteínas, sendo duas pertencentes ao complexo do citocromo c (Cyc 1 e Cyc 2), uma citocromo oxidase (aa_3) e rusticianina A (uma metaloproteína de baixa massa molecular contendo íons cobre como cofator). Esse mecanismo é ilustrado na Figura 30 (HEDRICH; SCHLÖMANN; JHONSON, 2011).

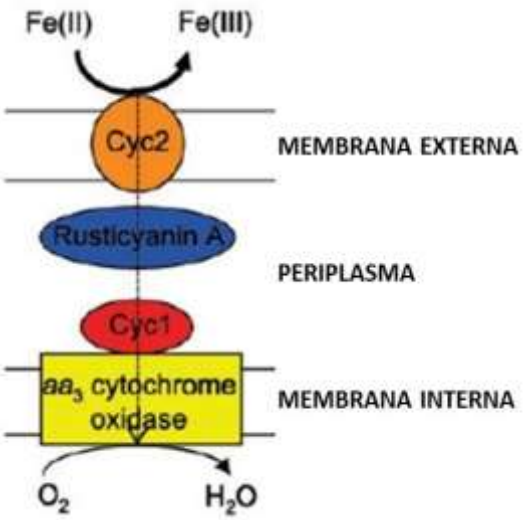


Figura 30 – Mecanismo de oxidação do íon ferroso a íon férrico realizado descrito na espécie de *Acidithiobacillus ferroxidans*. Fonte: HEDRICH; SCHLÖMANN; JHONSON, 2011 (Adaptação).

3.3.2.1.4 Bactérias Produtoras de Ácido

O grupo das bactérias produtoras de ácido inclui todas as espécies cujas reações metabólicas resultam na produção de compostos ácidos, sejam eles orgânicos ou inorgânicos. Dessa forma, este grupo engloba espécies pertencentes ao grupo das bactérias oxidantes de enxofre, oxidantes de ferro e redutoras de sulfato (LOTO, 2017).

Em geral, a formação de ácidos orgânicos, tais como, ácido acético, fórmico, lático, propiônico, glucônico, cítrico, succínico e butírico, é atribuída às espécies bacterianas de metabolismo facultativo (em aerobiose as fontes de carbono são consumidas até a formação de CO_2 e água). Portanto, a produção de ácido se dá por vias metabólicas alternativas quando as bactérias são expostas a condições de anaerobiose (BEECH; GAYLARDE, 1999; GU, 2012). O Quadro 2 apresenta uma relação com os principais ácidos orgânicos produzidos por bactérias bem como as espécies ou gêneros produtores (SHAIKH e QUERESHI, 2013; MOO-YANG, 2011; KHAN e GUPTA, 2015).

Quadro 2 – Espécies de bactérias produtoras de ácidos orgânicos

Ácido orgânico	Gênero ou espécie produtora
Acético	*Acetobacter pasterianus, A. aceti* e *Clostridium aceticum*
Butírico	*Clostridium butyricum* e *Bacillus subtilis*
Cítrico	*Arthrobacter parafinens, Bacillus licheniformis*e e *Corynebacterium sp.*
Fórmico	*Salmonella, Citrobacter, Shigella, Proteus, Escherichia sp.* e *Enterobacter sp.*
Glucônico	*Acetobacter sp., Guconobacter sp., Pseudomonas sp.* e *Vibrio sp.*
Lático	*Lactobacillus delbrueckii, L. bulgaricus,Lactococcus lactis* e *Leuconostoc sp.*
Propiônico	*Clostridium propionicum*
Succínico	*Actinobacillus succinogenus, Mannheimia succiniciproducens* e *E. coli*

Fonte: FRY et al., 2000; MÜLLER, 2001; RASPOR e GORANOVIC, 2008; LITTLE; LEE, 2007; SAUER et al., 2008; MOO-YANG, 2011.

Em relação à produção de ácidos inorgânicos, as principais bactérias envolvidas pertencem ao gênero *Acidithiobacillus*, especialmente *A. ferrooxidans*, *A. thioparus*, *A. thiooxidans* e *A. concretivorus*, produtoras de ácido sulfúrico a partir da oxidação do enxofre

(GENTIL, 2012). No entanto, outros gêneros também já foram descritos pela produção de ácidos inorgânicos, como espécies dos gêneros *Nitrobacter* e *Pseudomonas* produzindo ácido nítrico, do gênero *Nitrosomos* produzindo ácido nitroso, e do gênero *Desulfovibrio* e *Closridium* produzindo ácido sulfídrico (VIDELA, 2003).

A produção de ácidos, sejam eles orgânicos ou inorgânicos é um ponto importante em relação a biocorrosão pela consequente redução do pH, favorecendo a dissolução metálica e intensificando o processo corrosivo. E, em relação aos ácidos orgânicos, a sua produção no interior do biofilme, além de atuar promovendo a dissolução metálica, pode servir como fonte de carbono para os microrganismos, permitindo a viabilidade das células no interior do biofilme, que por sua vez, também são capazes de acelerar as reações envolvidas no processo de corrosão (WILLIAMSON *et al.*, 2015).

3.3.2.1.5 Bactérias Produtoras de Exopolissacarídeos

Algumas espécies microbianas são capazes de produzir substâncias poliméricas extracelulares (EPS, sigla em inglês para *Extracellular Polymeric Substances*). Essas substâncias podem ser carboidratos (exopolissacarídeos), proteínas, ácidos nucleicos e lipídios, normalmente associados a grupamentos fosfato (fosfolipídios), que são produzidas e podem ficar adsorvidas a membrana celular externa ou liberados para o espaço extracelular (NWODO, GREEN e OKOH, 2012). Em especial, os exopolissacarídeos possuem diversas funções biológicas, como: proteção, reconhecimento e interação celular.

Geralmente, estas moléculas são solúveis em água e soluções iônicas. No entanto, essa característica se aplica apenas aos polímeros que compõem a cápsula bacteriana e tem a função de viabilizar a interação da célula bacteriana com outras superfícies poliméricas, sejam elas, outras células ou superfícies metálicas cobertas por material orgânico. É importante salientar que a síntese e as características dos exopolissacarídeos estão intimamente ligadas à disponibilidade de nutrientes e a espécie microbiana produtora (SCHIMID, 2018).

A síntese de polímeros extracelulares é fundamental para a formação do biofilme, e por isso tem grande influência no processo de biocorrosão. Porém, os polissacarídeos que compõem a matriz polimérica do biofilme, diferentemente daqueles que compõem a cápsula, podem ser hidrofílicos e hidrofóbicos e serão responsáveis pelo revestimento, sustentação e fluidez do biofilme (WADOOD et al., 2015).

Os exopolissacarídeos formados por bactérias Gram-negativas normalmente são neutros ou aniônicos contendo ácidos urônicos e piruvato ligados a grupamentos cetônicos que favorecem a interação com cátions divalentes como Ca^{2+} e Mg^{2+}, potencializando a energia das interações eletrostáticas; e, ainda, podem apresentar compostos a base de nitrogênio (ureia e guanidina) que permitem as ligações de hidrogênio. Por outro lado, os polissacarídeos produzidos por espécies de bactérias Gram-positivas têm natureza catiônica, principalmente contendo Ca^{2+}, que favorece as interações eletrostáticas entre a célula e a superfície metálica (FINKENSTADT I et al., 2017). Dessa forma, percebe-se que os exopolissacarídeos produzidos por bactérias Gram-negativas levam a interações mais fortes entre as células e a superfície em que o biofilme foi instalado.

O gênero *Pseudomonas* é o mais estudado na biocorrosão pela sua grande participação na formação do biofilme, em especial as espécies *P. aeruginosa*, *P.* putida e *P. fluorescens* (HAMZAH, 2013; ABDOLAHI et al., 2014; AURILIAH e TING, 2014; WADOOD et al., 2015). Muito embora esse gênero já tenha sido descrito produzindo polímeros de glicose, manose, xilose, galactose e ribose, ele está mais associado à produção do alginato, que é um polímero linear formado por dímeros dos ácidos manurônico e glucurônico (ZHAO *et al.*, 2018).

Assim como espécies de *Pseudomonas*, a ferrobactéria *A. ferroxidans* apresenta grande versatilidade quanto aos polissacarídeos produzidos, pois durante as reações de oxidação foram isolados polímeros de glicose, ramnose, fucose, xilose e manose e nesses casos, verificaram-se resíduos de ácido glucurônico, ácidos graxos de cadeia longa e íons férrico (VU et al., 2009).

Assim como representantes dos outros grupos, espécies de BRS, em especial do gênero *Desulfovibrio*, já foram descritas pela produção de exopolissacarídeos ricos em manose, e, em menor quantidade, compostos por glicose, ramnose, xilose e galactose (DELBARRE-LADRAT *et al.*, 2014; AGWA, IYALLA e ABU, 2017).

A produção das substâncias poliméricas extracelulares é regulada por um mecanismo denominado Q*uorum-sensing*, por meio da comunicação intercelular mediada por moléculas químicas (autoindutores). Em geral, essa regulação está relacionada ao controle populacional. As moléculas responsáveis por essa regulação variam de acordo com o microrganismo (). A maioria das bactérias Gram-negativas realizam a regulação por meio da produção e reconhecimento de moléculas de N-acil homoserina lactona. Já as bactérias Gram-positivas fazem a regulação por meio da produção de oligopeptídeos, reconhecidos pela proteína de

membrana histidina quinase, que transfere o sinal através de uma sequência de fosforilações no meio intracelular (CHORMEY *et al.*, 2018).

Vale ressaltar que a produção de exopolissacarídeos e estabelecimento do biofilme podem levar ao início ou a intensificação de processos corrosivos. Todavia, há estudos que mostram que sob algumas condições o recobrimento da superfície metálica com o biofilme e esses materiais poliméricos pode levar a proteção do metal (ZARASVANDI e RAI, 2014).

3.3.2.1.6 Fungos

Os fungos são microrganismos eucariotos que podem apresentar a forma uni (levedura) ou multicelular (filamentoso). Os fungos filamentosos podem se reproduzir através da produção de esporos (reprodução sexuada) ou conídios (reprodução assexuada) formando filamentos, chamados hifas, que podem ou não se ramificar (MOLINARO; CAPUTO; AMENDOEIRA, 2009). A rede de filamentos formada é chamada de micélio, e se divide em vegetativo, responsável pela aderência do microrganismo a substratos sólidos, e aéreo, responsável pela captação de gases e nutrientes (MOLINARO; CAPUTO; AMENDOEIRA, 2009; ROVETTA et al., 2013).

Os fungos são microrganismos amplamente difundidos no ambiente e já foram relacionados a casos de corrosão. As principais espécies relacionadas aos processos corrosivos pertencem aos gêneros *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicilium* e *Hormoconis* (LITTLE e RAY, 2011).

O mecanismo clássico de corrosão induzida por fungo é pela formação de uma pilha de aeração diferencial, por meio da deposição das células na superfície, seja ela metálica ou não. Entretanto, já foi descrito que o metabolismo das células fúngicas pode produzir compostos potencialmente corrosivos, como mono- e diacilgliceróis, glicerol, ácidos orgânicos e aminoácidos livres (LITTLE e RAY, 2011; ROVETTA et al., 2013). Todavia, o desenvolvimento desses microrganismos e a sua participação na corrosão está atrelado à presença de água (QU et al., 2015). Outro problema associado ao desenvolvimento fúngico é a possibilidade de entupimento dos sistemas de distribuição, que pode intensificar os processos corrosivos (QU et al., 2015).

3.3.2.1.7 Algas

O termo alga, atualmente, engloba espécies de talófitos (espécies de vegetais inferiores que não possuem folha ou raízes) e bactérias (autotróficas e fotossintetizantes). Assim, esse termo engloba desde organismos muito simples e unicelulares, até espécies complexas e multicelulares com diferenciação de tecidos. Os integrantes desse grupo, em sua maioria, são autotróficos, fotossintéticos e podem ou não produzir pigmentos (FRANCESCHINI *et al.*, 2009).

As algas estão especialmente mais relacionadas a casos de *biofouling* do que biocorrosão, contudo a produção de gás oxigênio e ácidos orgânicos podem estimular os processos corrosivos. Além da produção de metabólitos de natureza corrosiva, a acumulação de algas em uma superfície pode levar a formação de uma pilha de aeração diferencial, dando início a corrosão (ALLWRIGHT e ENSHAEI, 2016).

Os gêneros mais comuns associados ao *biofouling* e a biocorrosão são *Navicula* (diatomácea), *Oscillatoria* (cianobactéria), *Chlorella* e *Ulothrix* (clorófitas). Os locais mais suscetíveis a problemas com esses organismos são sistemas de troca de calor, plataformas *off-shore* e sistemas de abastecimento de água. Vale ressaltar, que assim como os fungos o desenvolvimento desses organismos pode provocar o entupimento de todo o sistema (VIDELA, 2003; LANDOULSI, COOKSEY e DUPRES, 2011).

3.3.2.2 Mecanismos da Biocorrosão

Os processos de corrosão mediados por microrganismos, assim como os eletroquímicos, necessitam do estabelecimento de áreas anódicas e catódicas, formando uma pilha. Vale ressaltar que a pilha é formada pela diferença de potencial elétrico entre anodo e catodo e isso pode ser provocado por vários fatores, como a produção de ácidos ou metabólitos capazes de romper filmes protetores, gradientes de concentração ou ainda a despolarização catódica, como ilustra a Figura 31 (VIDELA, 2003; LITTLE e LEE, 2007; GENTIL, 2012; LOTO, 2017).

Há relatos na literatura de que a produção de ácidos pode formar filmes protetores na superfície metálica. Contudo, na maioria dos casos, esses ácidos, sejam eles orgânicos ou inorgânicos, podem promover o rompimento do filme protetor, oxidar os metais e transferi-los para o eletrólito. Como exemplo dessa dissolução pode-se citar a corrosão de ligas de níquel

em presença de ácido butírico, bem como do aço carbono em contato com ácidos acético e sulfúrico. (LITTLE e LEE, 2007).

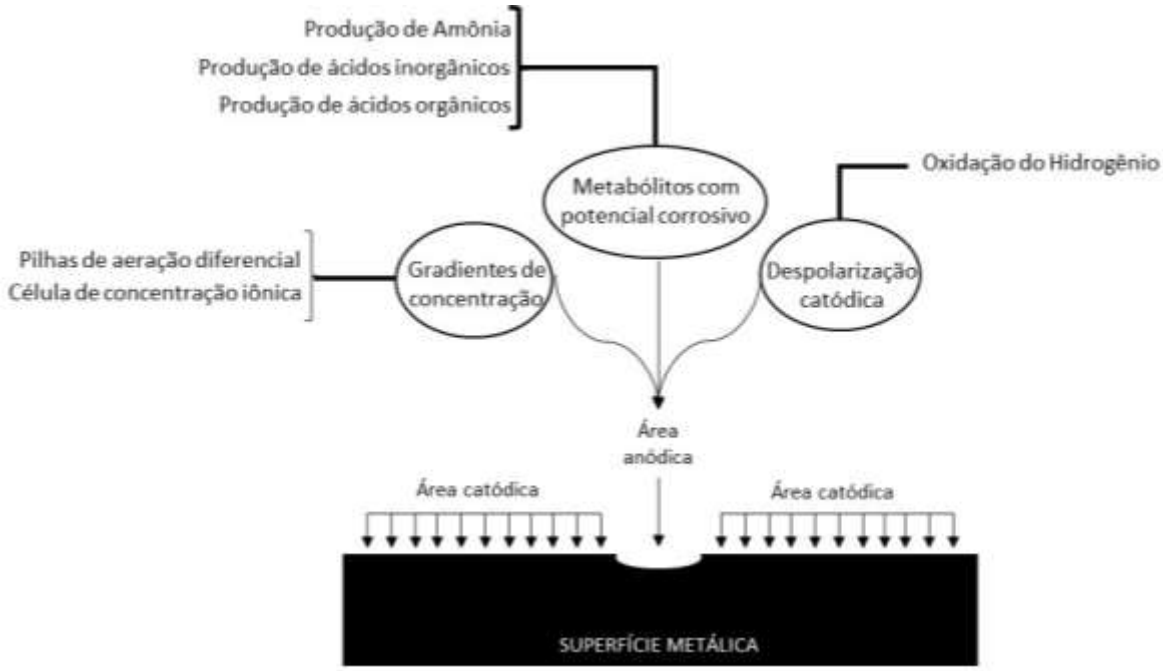


Figura 31 – Formação de áreas anódicas e catódicas pela participação de microrganismos (Autoria própria).

Concomitantemente à produção de ácidos, outros compostos podem ser formados, como metano, produzido juntamente com o gás sulfídrico, em condições anaeróbicas. Muito embora o metano já tenha sido relacionado à corrosão do aço carbono, esse mecanismo nunca foi demonstrado (LITTLE e LEE, 2007). Portanto, acredita-se que o ataque ao aço carbono ocorra pela ação do ácido sulfídrico, uma vez que compostos a base de metano vêm sendo testados como inibidores de corrosão (VERNA, SINGH e QURAISHI, 2015).

Em contrapartida, as bactérias redutoras de nitrato, que além de ácidos, são capazes de produzir amônia a partir do metabolismo de aminoácidos, ou, ainda, a partir de inibidores de corrosão à base de nitrato. A amônia pode promover a corrosão por tensão em ligas de cobre, pois os íons de amônia ligam-se aos íons cobre, rompendo o filme de passividade, e liberando H_2 que ao penetrar nos poros da liga metálica, a torna mais frágil. Porém, a susceptibilidade das ligas de cobre à corrosão está diretamente relacionada a composição da liga, uma vez que a presença de níquel torna a liga resistente a ação da amônia (LITTLE e LEE, 2007).

Em complemento, além de causar a corrosão em ligas de cobre, a presença de amônia no concreto, leva à corrosão desse material. Pois, o contato dos sais de amônio com o concreto

libera gás amônia em seus poros e os íons hidrogênio começam a ser substituídos pelos íons cálcio, acidificando o ambiente e desintegrando a matriz do cimento (FEI et al., 2014).

Aliado à produção de metabólitos, a presença e desenvolvimento microbianos pode criar gradientes de concentração, culminando na formação de pilhas de concentração. A pilha mais comum relacionada aos microrganismos é a pilha de aeração diferencial, e, a partir dela pode haver a formação de uma célula de iônica (VIDELA, 2003; LITTLE e LEE, 2007; GENTIL, 2012).

A criação de ambientes com diferença de concentração de oxigênio é ilustrada na Figura 32. A sua formação ocorre pela deposição de células microbianas na superfície metálica onde se multiplicam, formam colônias e produzem metabólitos que alteram a superfície metálica. Essas modificações geram diferença na concentração de gases entre a região abaixo das colônias microbianas e o restante da superfície metálica sem contato com as células.

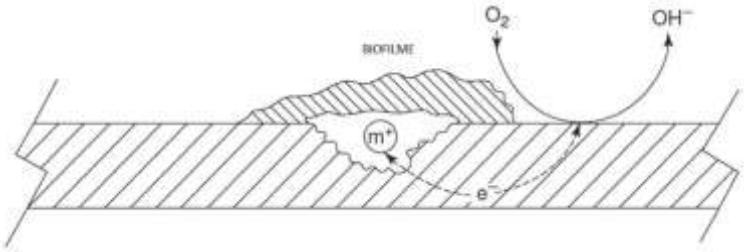


Figura 32 – Formação de uma pilha de aeração diferencial pela deposição de células microbianas causando diferenças de potencial elétrico entre a região abaixo dos microrganismos e o restante da superfície metálica. Adaptado de LITTLE; LEE (2007).

Nesse caso, a região anódica é aquela abaixo das colônias microbianas, onde o metal é oxidado e transferido para o eletrólito, ao passo que a região catódica corresponde à superfície metálica no entorno do biofilme, onde o O_2 é reduzido, formando hidroxilas (OH^-) (VIDELA, 2003; LITTLE e LEE, 2007; GENTIL, 2012).

Com a evolução da deposição microbiana na superfície metálica, há a formação de biofilmes e consequentemente a produção de exopolissacarídeos, os quais contêm, sítios ativos que ligam os íons metálicos produzidos pelas reações anódicas. A maior concentração de íons metálicos na região do biofilme intensifica as reações catódicas pela interação dos íons com as hidroxilas formando óxidos metálicos, como ilustra a Figura 33 (LITTLE e LEE, 2007).

Os mecanismos relacionados a biocorrosão estão muito ligados à produção de biofilmes e a ação de diversos grupos microbianos. Entretanto, os principais microrganismos envolvidos

nesse processo são as bactérias redutoras de sulfato (BRS), pois a sua presença no biofilme induz ou intensifica o processo de corrosão por várias formas, como: a despolarização catódica pela ação da enzima hidrogenase; a despolarização anódica pela formação de sulfetos de ferro; a formação de células de concentração pela ligação dos íons metálicos dissolvidos aos exopolissacarídeos (Figura 33); ou a corrosão por estresse causado pelo formação de hidrogênio gasoso (H_2) que entra nos poros do metal causando a sua fragilização (LITTLE e LEE, 2007; VENZLAFF *et al.*, 2013; YU *et al.*, 2013; LIENGEN et al., 2014; JAVED, STODDART e WADE, 2015; WU *et al.*, 2015). Muito embora a despolarização catódica seja o principal mecanismo envolvendo as BRS, acredita-se que todos esses mecanismos possam acontecer simultaneamente (LITTLE e LEE, 2007; LIENGEN *et al.*, 2014).

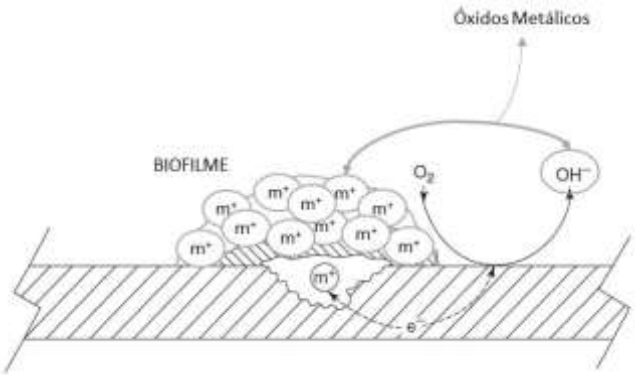


Figura 33 – Formação de uma célula de concentração de íons no biofilme que acelera a reação catódica pelo consumo da hidroxila na formação de óxidos metálicos. Adaptado de LITTLE e LEE (2007).

A Figura 34 ilustra como ocorre a despolarização catódica pela ação da hidrogenase. A existência desse mecanismo foi proposta pela primeira vez em um trabalho publicado em 1934 por KÜHR e VLUGT. Contudo, os autores não foram capazes de elucidar o mecanismo de ação dessa enzima, propondo que em condições de anaerobiose as bactérias redutoras de sulfato seriam capazes de oxidar o hidrogênio e reduzir o sulfato a sulfeto, o que intensificava o processo de corrosão. Somente décadas mais tarde, entre os anos 1970 e 1990 estudos corroboraram e elucidaram o mecanismo proposto por KÜHR e VLUGT em 1934 (POTEKHINA et al., 1999).

Quando uma superfície metálica é imersa em uma solução aquosa em anaerobiose, ela é polarizada por prótons de hidrogênio formados a partir da dissociação da molécula de água. Vale ressaltar que a reação de polarização da superfície metálica é reversível e contínua. Ou seja, a conversão do próton de hidrogênio em hidrogênio molecular ocorre constantemente e é,

justamente, esse processo que protege a superfície metálica (LITTLE; LEE, 2007; LIENGEN et al., 2014).

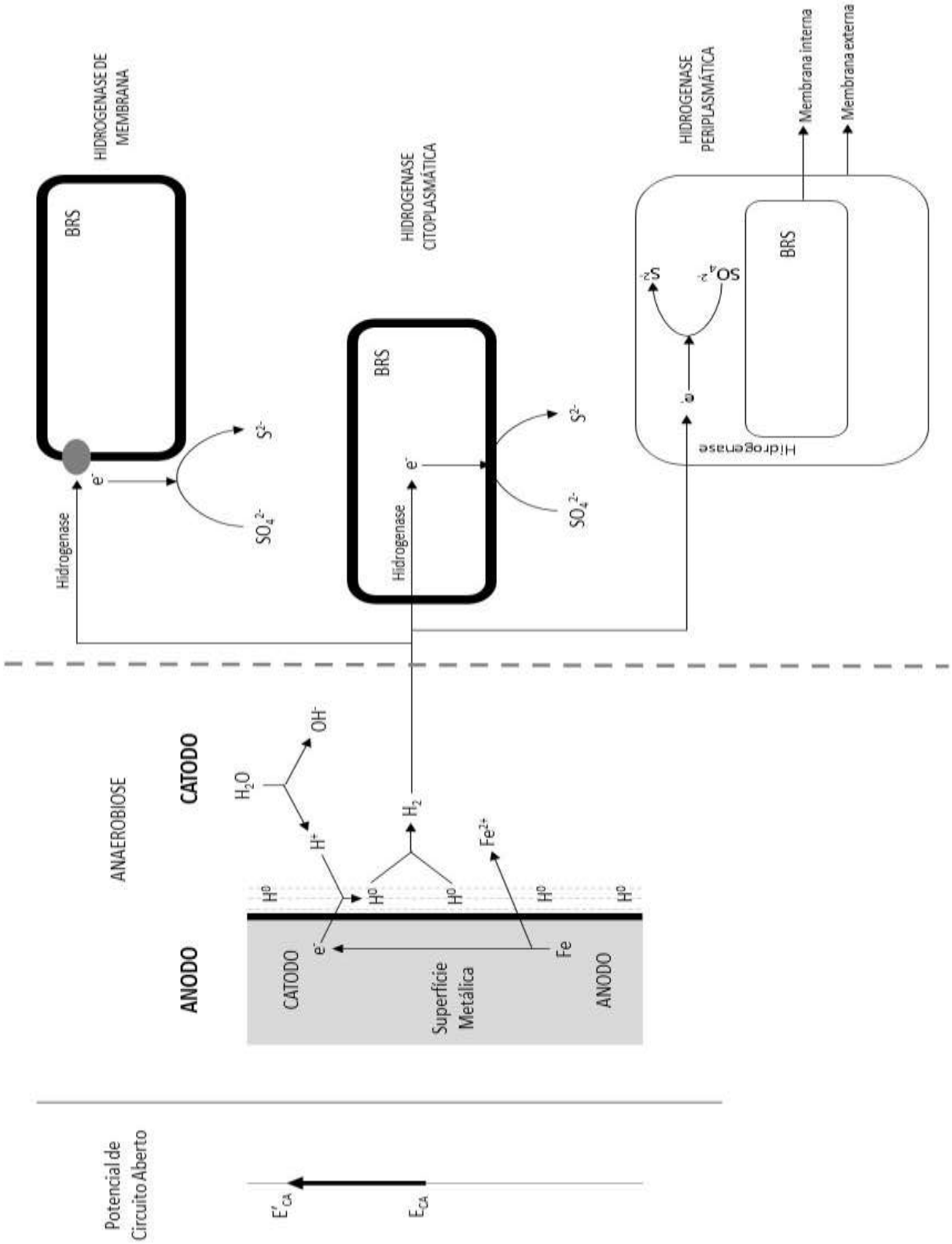


Figura 34 – Representação da despolarização catódica mediada pela hidrogenase, que pode atuar na membrana, no espaço periplasmático ou no citoplasma. Adaptado de POTEKHINA *et al*. (1999) e MATIAS *et al.* (2005).

A capacidade dos microrganismos em produzir hidrogenase interrompe a polarização do metal e permite o início de um processo corrosivo. O local de ação dessa enzima depende do microrganismo, pois ela pode estar na membrana, no citoplasma ou ainda no espaço periplasmático. Porém, independentemente da localização a sua função é retirar o elétron do hidrogênio molecular e transferi-lo para o uso no metabolismo celular (LITTLE; LEE, 2007; GENTIL, 2012; LIENGEN et al., 2014).

Neste contexto, uma vez a superfície metálica não está mais polarizada e, consequentemente, protegida, o metal começa a sofrer reações de oxidação liberando íons metálicos para o eletrólito. A partir desse evento podem começar a acontecer os outros mecanismos de corrosão mediados pelas BRS (despolarização anódica, formação de células de concentração e fragilização por hidrogênio) (KÜHR e VLUGT, 1934; POTEKHINA et al., 1999; VIDELA, 2003; LITTLE e LEE, 2007; GENTIL, 2012; LIENGEN et al., 2014).

Com base nessas informações, é possível perceber que os microrganismos podem promover processos corrosivos através de diversos mecanismos. Por isso, é necessário o uso de alternativas para inibir o desenvolvimento desses processos, uma vez que o desenvolvimento de um processo corrosivo, com ou sem a participação microbiana gera muito mais custos comparado aos propostos nas alternativas de prevenção e controle.

3.3.2.3 Identificação e Monitoramento da Biocorrosão

A identificação e o monitoramento da biocorrosão é feita através de análises microbiológicas, químicas e metalúrgicas. E, para tanto deve-se identificar os microrganismos envolvidos, isolando-os a partir do fluido do sistema ou dos produtos de corrosão, e observar se a morfologia da corrosão e os produtos formados são compatíveis com os processos induzidos por microrganismos (OPEL *et al.*, 2014; SLOTT e ABDULLAHI, 2018).

A presença dos microrganismos pode ser determinada por diversas formas como a cultura em meios líquidos ou sólidos, a extração e quantificação de algum componente ou metabólito celular, ou também, pela observação de células junto aos produtos de corrosão por microscopia.

A cultura é feita usando meios seletivos para os microrganismos de interesse na biocorrosão, nos quais pode ser feita uma avaliação quantitativa ou qualitativa da presença dos microrganismos. No caso de uma avaliação qualitativa, a amostra é simplesmente inoculada no meio de cultura. Por outro lado, na maioria das vezes é crucial se fazer a quantificação, sendo

necessária a realização de diluições sucessivas da amostra e inoculação dessas diluições nos meios específicos (OPEL *et al.*, 2014).

Basicamente, a quantificação é feita por dois métodos, um que aplica o meio sólido, que é a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) e, outro feito com meio líquido e estima o número mais provável (NMP) de células na amostra (VERMELHO et al, 2006).

Porém, antes da quantificação, é necessário a caracterização da amostra no intuito de tentar reproduzir na análise microbiológica, condições semelhantes às da amostra original, avaliando características como pH, salinidade e temperatura

O Quadro 3 indica os meios de cultura mais usados na pesquisa e quantificação dos microrganismos de interesse na corrosão. Todavia, é possível o uso de outros meios de cultura, ou, ainda, modificações nos meios citados de modo a se obter a melhor resposta de acordo com o estudo a ser desenvolvido (LIENGEN et al, 2014).

Como por exemplo, GALVÃO (2008) e ARAÚJO (2011) ajustaram a concentração de cloreto de sódio (NaCl) em todos os seus meios de cultivo de modo a reproduzir a salinidade da água do mar. Além de ajustes na salinidade, o estudo da biocorrosão em condições termofílicas necessita da modificação da temperatura de incubação dos microrganismos (LATA, SHARMA e SINGH, 2012; LIANG *et al.*, 2014).

Quadro 3 – Meios de cultura usados na análise microbiológica de amostras líquidas e sólidas para a pesquisa dos microrganismos de interesse na biocorrosão

Microrganismo	Meio de Cultura
Leveduras	Agar extrato de malte
Fungos filamentosos	Agar extrato de malte ou Agar batata dextrose
Bactérias Heterotróficas	Agar ou caldo nutriente
Bactérias produtoras de ácido	Meio VERMELHO de fenol
Bactérias redutoras de sulfato (BRS)	POSTGATE B (líquido) ou POSTGATE E (sólido)
Bactérias oxidantes de ferro	Caldo ou agar citrato férrico amoniacal

Fonte: VIDELA, 1996; GALVÃO, 2008; ARAÚJO, 2011.

Além da cultura, é possível detectar a presença dos microrganismos pela detecção de estruturas celulares ou produtos do seu metabolismo. Em relação às estruturas celulares, a

alternativa mais usada são as técnicas moleculares de extração e amplificação do material genético celular (SKOVHUS, CAFFREY e HUBERT, 2014). Enquanto que as alternativas metabólicas têm como principais alvos a molécula de ATP ou enzimas que caracterizam a atividade do metabolismo microbiano, como por exemplo, as enzimas adenosina-5' fosfosulfato redutase e hidrogenase, que são fundamentais para as reações promovidas pelas BRS (LIENGEN et al, 2014).

Além das alternativas que necessitam da presença das células viáveis, a microscopia pode ser usada para observar a morfologia da corrosão induzida por microrganismos, que, em geral, ocorre de forma localizada (corrosão por pite), e é ilustrada na Figura 35. (VIDELA, 2003; LITTLE e LEE, 2007; GENTIL, 2012; LIENGEN et al, 2014).

Figura 35 – Corrosão por pites (Fonte: GALVÃO, 2008)

Vale salientar que, por definição, pite é um tipo de corrosão de contornos circulares e a medida da largura deve ser inferior à medida da profundidade (GENTIL, 2012). E, o aparelho mais indicado para a observação e análise da superfície metálica é o microscópio confocal com varredura a laser, pois permite a obtenção de imagens tridimensionais e, assim, a determinação das medidas de altura, largura e profundidade dos pontos de corrosão (LIENGEN et al, 2014).

A microscopia ainda pode ser usada para observar as células que formam o biofilme aderidas à superfície metálica ou aos produtos de corrosão, como ilustra a Figura 36. Nesse caso, é mais indicado o uso de microscopia eletrônica de varredura (MEV) (LIENGEN et al, 2014).

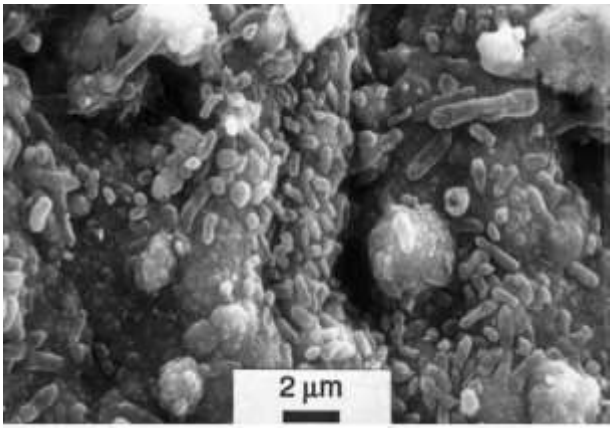


Figura 36 – Imagens da microscopia eletrônica de varredura de biofilme formado em superfícies metálicas (Fonte: LITTLE e LEE, 2014).

Muito embora existam diversos métodos que viabilizem a identificação e o monitoramento da corrosão, este processo deve ser evitado. E, para tanto, pode-se fazer uso de biocidas com ação nas células planctônicas e/ou sésseis presentes no fluido de processo ou a aplicação de alternativas que protejam a superfície metálica, como a aplicação de inibidores de corrosão, revestimentos, proteção catódica e anódica.

3.3.2.4 Métodos de Prevenção e Controle da Biocorrosão

Considerando que a corrosão é um processo nocivo para qualquer sistema, e envolve um alto custo com manutenção, é necessário a adoção de medidas de prevenção e controle dos processos corrosivos. Essas medidas podem envolver a aplicação de biocidas, que eliminem ou controlem a população microbiana no fluído do processo, ou de compostos químicos e/ou técnicas eletroquímicas que polarizem a superfície metálica, protegendo-a (GENTIL, 2012).

Em relação aos biocidas, os principais compostos usados são o gluteraldeído, sais quaternários de amônio e THPS (Tetrakis-Hydroxymethyl-Phosphonium), pois apresentam alta eficiência no controle de bactérias redutoras de sulfato, produtoras de ácido e heterotróficas aeróbicas. E, ainda apresentam estabilidade em relação a variação de temperatura, boa compatibilidade com os fluídos de processo e baixo impacto ambiental (DOW, 2010).

Apesar de o uso de biocidas controlar a população microbiana, é comum a associação com alternativas como inibidores de corrosão, revestimentos e técnicas eletroquímicas que protegem a superfície metálica de ataques corrosivos.

Os inibidores de corrosão, genericamente, podem ser classificados quanto a sua composição em orgânicos ou inorgânicos, e em relação ao seu comportamento eles podem ser anódicos, catódicos, de adsorção, oxidantes e não oxidantes, que serão melhor descritos no Item 2.10 (ROBERGE, 1999; VIDELA, 2003; GENTIL, 2012).

De acordo com o projeto e o sistema a ser protegido, a aplicação de inibidores de corrosão se torna inviável, assim as alternativas mais usadas são a aplicação de revestimentos que podem ser metálicos, não metálicos inorgânicos e metálicos orgânicos. E, a escolha do melhor revestimento vai considerar o custo do investimento e a logística da sua implementação.

Outra alternativa muito eficiente no controle da corrosão é a proteção catódica, que induz a formação de uma pilha de modo que a superfície metálica do sistema assume a função de catodo não sofrendo o ataque das reações de corrosão (ROBERGE, 1999; GENTIL, 2012).

Embora existam diversas alternativas para evitar a corrosão, é comum a associação dessas técnicas de modo a aumentar a proteção do sistema de interesse e ainda reduzir os custos de projeto para essa proteção. Sendo assim, é muito comum a associação de biocidas e inibidores de corrosão à aplicação de revestimentos e à proteção catódica.

3.4 BIOCIDAS COMERCIAIS

O termo biocida se refere a qualquer composto ou processo químico, físico ou biológico cujo objetivo seja a eliminação organismos vivos, sejam eles espécies animais, vegetais ou microbianas (FALKIEWICZ-DULIK, JANDA e WYPYCH, 2015).

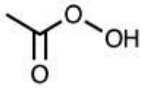
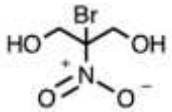
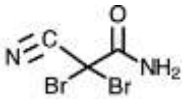
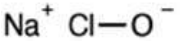
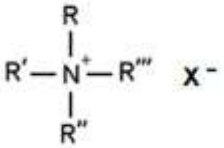
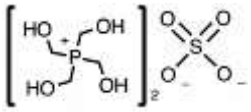
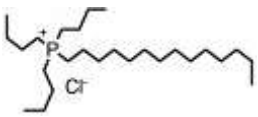
A escolha de um biocida requer uma análise prévia considerando a eficiência do composto sobre a população microbiana alvo, a relação custo benefício da sua aplicação, o impacto ambiental provocado e a compatibilidade e estabilidade do composto às condições do sistema em que ele será empregado (RIBEIRO e SIMÕES, 2018).

Os biocidas são usados em diversos setores, principalmente, aqueles em que envolvem transporte de fluidos, no intuito de evitar a formação de biofilmes e, consequentemente, a biocorrosão (ZHU, 2007; KHARILAS et al., 2015). Todavia, seu uso deve ser controlado de modo que provoque o mínimo impacto ambiental possível e previna a disseminação de microrganismos resistentes no meio ambiente (ECHA, 2017).

Nas últimas décadas, diversos compostos químicos bioativos foram desenvolvidos para a desinfecção, esterilização e prevenção, como sais quaternários de amônio, compostos

alcoólicos, fenólicos ou a base de halogênios, antibióticos e peróxidos. Os principais biocidas usados atualmente são descritos no Quadro 4 (KHARILAS et al., 2015).

Quadro 4 – Descrição dos principais biocidas em uso atualmente

Nome	Estrutura Química	Fórmula Química	Mecanismo de Ação
Ácido peracético		$C_2H_4O_3$	Oxidante
Bronopol		$C_3H_6BrNO_4$	Eletrofílico
DBNPA (Dibromonitrilo-propionamida)		$C_3H_2Br_2N_2O$	Eletrofílico
Hipoclorito de Sódio		NaClO	Oxidante
Sais quaternários de amônio		Variável	Lítico
THPS (Sulfato tetrakis hidroximetil fosfônio)		$[(HOCH_2)_4P]_2SO_4$	Eletrofílico
TTPC (Cloreto tributil tetradecil fosfônio)		$C_{26}H_{56}PCl$	Lítico

Fonte: DOW, 2010; SILVA, 2012; KHARILAS, 2015.

Apesar dos antibióticos apresentarem atividade biocida o seu uso é desaconselhável, de modo a prevenir a disseminação de espécies patogênicas e oportunistas multirresistentes no meio ambiente. Além disso, em geral, esses fármacos apresentam um mecanismo de ação específico na inibição de algum ponto do metabolismo celular, enquanto que o desejável é que o biocida apresente amplo espectro de ação (RUSSELL, 2003).

Os biocidas citados no Quadro 4 apresentam boa eficiência no controle populacional, compatibilidade e estabilidade a uma ampla gama de condições ambientais e características do fluido do sistema e baixo impacto ambiental (DOW, 2010).Apesar desses compostos

apresentarem boa eficiência, o biocida só é efetivo se a molécula conseguir atingir e interagir com o microrganismo, seja atuando na sua superfície ou em seu interior. De um modo geral, o biocida pode agir nos componentes celulares externos, na membrana citoplasmática ou nas estruturas e organelas citoplasmáticas (MAILLARD, 2002).

Os biocidas com mecanismo de ação lítico, normalmente são surfactantes anfifílicos (características polares e apolares) que agem na dissolução da membrana celular, rompendo-a, como é o caso dos sais quaternários de amônio (MAILLARD, 2002; KHARILAS et al., 2015).

Por outro lado, os biocidas com atividade eletrofílica são constituídos por grupos funcionais reativos com grupamentos doadores de elétrons como é o caso de radicais a base de enxofre (-SH) e nitrogênio (-NH) presentes nas proteínas que compõem a membrana citoplasmática e a parede celular (MAILLARD, 2002; KHARILAS et al., 2015). Como pode ser observado no Quadro 4, a maior parte dos biocidas de uso industrial apresentam esse mecanismo de ação (KHARILAS et al., 2015).

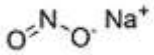
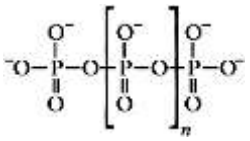
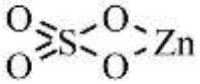
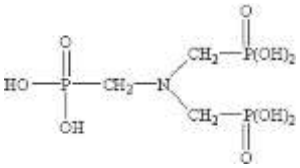
E, por fim, há os biocidas com ação oxidante, sendo seu principal representante os derivados do cloro, que penetram com facilidade na célula e atuam interferindo nas reações metabólicas inviabilizando o seu funcionamento e levando à morte da célula (MAILLARD, 2002; KARSA; ASHWORTH, 2002; KHARILAS et al., 2015).

3.5 INIBIDORES DE CORROSÃO COMERCIAIS

Segundo Gentil (2012), um inibidor de corrosão é uma substância ou um conjunto de substâncias que, em uma determinada concentração, reduzem ou eliminam a corrosão. O uso de inibidores de corrosão é um dos métodos mais importantes de prevenção e controle da biocorrosão (SASTRI, 1998). Contudo, para sua aplicação deve avaliar a relação custo-benefício baseando-se na origem da corrosão no sistema, no custo da sua utilização, nas suas propriedades e mecanismos e nas condições adequadas de aplicação e controle desse inibidor (ASH; ASH, 2011; GENTIL, 2012).

Os inibidores podem ser classificados quanto a sua composição em orgânicos e inorgânicos, e quanto ao seu comportamento em oxidantes e não oxidantes, e quanto à sua composição em anódicos, catódicos e de adsorção (ROBERGE, 1999; GENTIL, 2012). No Quadro 5 são sumarizados os principais biocidas em uso atualmente, bem como sua composição química e o comportamento.

Quadro 5 – Descrição dos principais inibidores de corrosão em uso atualmente

Tipo de inibidor	Nome	Fórmula Química	Estrutura Química	Comportamento
Anódico	Nitrito de sódio	$NaNO_2$		Oxidante
Catódico	Polifosfatos	Variável		Não-Oxidante
	Sulfato de zinco	$ZnSO_4$		
De adsorção	Amino trimetileno ácido fosfónico (ATMP)	$N(CH_2PO_3H_2)_3$		Não-Oxidante

Fonte: ASH; ASH, 2011; REVIE, 2011; GENTIL, 2012.

Os inibidores anódicos agem reprimindo as reações anódicas. Em geral, sua atividade envolve a reação do inibidor com o íon metálico produzido pela corrosão formando óxidos insolúveis que adsorvem à superfície metálica formando um filme protetor uniforme e insolúvel que cessa o processo corrosivo. No entanto, a aplicação de inibidores anódicos deve ser feita com cautela, pois o uso de uma concentração menor que a efetiva não será suficiente para a formação de um filme uniforme, e intensificará a corrosão (ROBERGE, 1999; ASH; ASH, 2011; GENTIL, 2012;). Em geral, os compostos mais usados com atividade sobre as reações anódicas são hidróxidos, que oxidam o metal formando os óxidos insolúveis e produzindo íons OH^-. Os inibidores anódicos mais eficientes são a base de cromatos, mas por questões ambientais o seu uso foi restringido. Em sistemas de refrigeração, têm-se optado pelo uso de molibidatos e nitrito de sódio (REVIE, 2011; GENTIL, 2012).

Em contrapartida, os inibidores catódicos agem na repressão das reações catódicas. Normalmente são compostos por íons que reagem com a hidroxila presente no catodo, formando hidróxidos insolúveis que adsorvem na superfície impedindo a difusão de oxigênio e a condução de elétrons. Os inibidores mais usados em sistemas de resfriamento atualmente são

os polifosfatos, que tem seu efeito potencializado quando combinado a sais de zinco. O inconveniente da sua aplicação é a formação de incrustações em ambientes alcalinos, e também funcionarem como fonte de fósforo para microrganismos, principalmente algas (ASH; ASH, 2011; REVIE, 2011; GENTIL, 2012).

Há ainda inibidores de corrosão mistos ou de adsorção, que aderem à superfície metálica tanto do anodo quanto do catodo protegendo-os (REVIE, 2011). Geralmente, os representantes dessa classe de inibidores são compostos orgânicos que contém grupamentos fortemente polares (GENTIL, 2012), como é o exemplo ATMP, apresentado no Quadro 5.

Como já dito anteriormente, a escolha do inibidor de corrosão deve ser feita baseada em vários critérios como: custo, compatibilidade com as condições operacionais e eficiência do tratamento. Dessa forma, é possível a associação de mais de um inibidor de modo a proteger o sistema de problemas de corrosão. Em campo, o tratamento contra a corrosão envolve o uso contínuo de inibidores de corrosão e biocidas. E, eventualmente, são feitos tratamentos de choque com compostos diferentes do usados continuamente de modo a cobrir qualquer falha ou risco de corrosão no sistema, com ou sem interferência de microrganismos.

3.6 PRODUTOS NATURAIS BIOATIVOS

A diversidade metabólica dos organismos na natureza foi desenvolvida pela pressão da evolução natural das espécies. Tal fato resultou numa ampla gama de vias de síntese de uma infinidade de metabólitos primários e secundários com as mais variadas estruturas, composição e funcionalidades (TRINGALI, 2012). Dessa forma, a natureza nos fornece uma fonte inesgotável de possibilidades de pesquisa sobre as possíveis aplicações dos produtos de origem biológica, seja ela vegetal ou microbiana. Uma série de medicamentos usados atualmente são de origem biológica, sendo a morfina (alcaloide extraído da espécie de papoula *Papaver somniferum*) e a penicilina (antibiótico produzido por fungos do gênero *Penicillium*) os exemplos mais clássicos (DEWICK, 2009; TRINGALI, 2012).

As pesquisas em torno dos produtos naturais são mais voltadas para a aplicação na saúde humana. Contudo, há um grande interesse no estudo do potencial biotecnológico de espécies vegetais e seus derivados para aplicação industrial, em especial como agentes antimicrobianos, uma vez que a versatilidade metabólica, a mutação e a transferências de materiais genéticos entre espécies microbianas, têm aumentado a resistência dos microrganismos ao tratamento com os antimicrobianos existentes (RUSSEL, 2003).

Diversos produtos naturais de origem vegetal já foram descritos pela sua atividade antimicrobiana, entretanto o foco dos estudos disponíveis na literatura é a sua aplicação sobre espécies patogênicas (AHMED et al., 2016). Dessa maneira não é possível afirmar se extratos vegetais e seus componentes atuam sobre os grupos microbianos de interesse na corrosão, exceto espécies do gênero *Pseudomonas* que são patógenos humanos e já foram avaliadas quanto a susceptibilidade aos produtos naturais (SRINIVASAN et al., 2001; MOTHANA; LINDEQUIST, 2005; VUUREN, 2008; PEREIRA et al., 2014; ALGHOONEH et al., 2015; LU et al., 2015; AGYARE et al., 2016; AHMED et al., 2016; MAMBE et al., 2016).

Nenhum dos extratos já avaliados quanto ao seu efeito biocida são aplicados em escala industrial, apesar de apresentam grande potencial. Contudo, para uma possível aplicação em campo é desejável que seus compostos bioativos sejam isolados e possam ser sintetizados quimicamente de modo que a sua produção não envolva plantio e manutenção de lavouras, por se tratar de um processo mais oneroso e suscetível à fatores climáticos (CÉSPEDES et al., 2013; AHMED et al., 2016). Além da avaliação de extratos vegetais como biocidas, muitos já foram avaliados quanto ao potencial como inibidor de corrosão, apresentando resultados promissores (ABDEL-GABER et al., 2011; SASTRI, 2011; HAMDAMI et al., 2015; HU et al., 2015).

A busca de novos compostos para aplicação industrial no controle e prevenção da corrosão, com ou sem a participação biológica, faz parte, principalmente do conceito atual de química verde. No qual, o intuito é desenvolver o conceito de sustentabilidade e preocupação com o meio ambiente, gerando o mínimo de impacto possível. Portanto, as pesquisas por produtos naturais com propriedades de interesse comercial são uma possível alternativa para a substituição de produtos nocivos ao meio ambiente.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram testadas as proantocianidinas extraídas da fibra do coco como biocida e inibidor de corrosão verdes. Entretanto, antes de estudar seu potencial biotecnológico foi necessária a verificação da sua toxicidade ao meio ambiente. Assim, a seguir serão apresentados os procedimentos para obtenção do material vegetal, bem como a extração e quantificação das proantocianidinas. Também, serão descritos os materiais e metodologias para o estudo da ecotoxicidade, do efeito biocida e da ação na inibição da corrosão das proantocianidinas extraídas da fibra do coco.

4.1 MATERIAL VEGETAL

4.1.1 **Coleta e Identificação**

As fibras de coco (*Cocos nucifera* L.) foram obtidas a partir dos frutos coletados no campo experimental da Embrapa na cidade de Itaporanga da Ajuda (Sergipe, Brasil). O material vegetal foi identificado pelo Drº Benedito Calheiros Dias, vinculado ao Centro de Pesquisas do Cacau (Bahia, Brasil) onde a exsicata[2] foi depositada com o código CPC:2190.

4.1.2 **Preparo do Extrato Aquoso**

O extrato aquoso do material vegetal foi realizado por infusão, imergindo as fibras do coco em água a 70ºC por 3 horas. Após o resfriamento, o extrato foi filtrado e liofilizado. De acordo com a necessidade para uso nos experimentos, o material liofilizado foi ressupendido em água destilada, esterilizado por filtração em membrana (poro de 0,22 μm) e armazenado a -20±2ºC até o momento de uso.

4.1.3 **Caracterização Química da Fibra do Coco**

A etapa de extração e caracterização das proantocianidinas da fibra do coco foi desenvolvida pelo Drº Gabriel Rocha Martins, no Laboratório de Análise Fitoquímica, do Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais, da Universidade Federal do Rio de Janeiro (MARTINS, 2016).

[2]Exsicata é uma palavra originária do latim que significa restos ressecados. Segundo a Botânica, ela pode ser definida como um fragmento ou exemplar vegetal que é prensado, ressecado e conservado em um herbário contendo a descrição das suas características e os dados da coleta.

4.1.4 **Quantificação das Proantocianidinas**

As proantocianidinas em solução (Item 4.1.3) foram quantificadas por metodologia colorimétrica descrita por Porter, Hrstich e Chan (1986). A metodologia se baseia na reação que ocorre entre as proantocianidinas com as soluções de butanol-HCl (95:5, v/v) e sulfato férrico amoniacal-HCl (2% de sulfato férrico amoniacal em HCl 2N), que, quando aquecidas (100±3ºC por 60 minutos), formam complexos de coloração avermelhada. Após o resfriamento, em temperatura ambiente, foi medida a absorbância no comprimento de onda de 550 nm em espectrofotômetro (Hach, modelo DR5000). Essa metodologia é capaz de quantificar até 20 g/L de proantocianidinas em solução, em casos de concentração superior deve-se realizar diluição utilizando solução de acetona 70% (v/v). Essa metodologia foi utilizada para a construção de uma curva padrão relacionando a concentração de proantocianidinas em solução com o valor de absorbância.

4.2 AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE

A toxicidade do extrato de proantocianidinas foi avaliada pelos testes de germinação de sementes e alongamento das raízes utilizando sementes de alface da espécie *Lactuca sativa* L (MORALES, 2004). A escolha desse vegetal foi baseada na sua susceptibilidade à qualidade da água, ao seu fácil manuseio e rapidez de germinação, conforme reportado pelo autor.

As soluções a serem testadas para avaliar a ecotoxicidade são preparadas em condições assépticas em cabine de segurança biológica, utilizando como base uma solução contendo os micronutrientes necessários para a germinação das sementes (Quadro 6).

O preparo das soluções de proantocianidinas extraídas da fibra do coco foi feito por diluições seriadas na proporção de 1:2, utilizando solução de micronutrientes (Quadro 6) de modo que obtivéssemos soluções testes com concentrações finais entre 1 e 0,125g/L. Além das soluções teste foram conduzidos ensaios controle positivo, contendo apenas a solução de micronutrientes, e negativo, no qual foi acrescentado à solução de micronutrientes 5 g/L de cloreto de zinco ($ZnCl_2$), pois nessa concentração o zinco é tóxico às espécies vegetais levando à inibição da germinação de sementes (MORALES, 2004).

Após o preparo das soluções, foi realizada a desinfecção[3] das sementes com imersão em solução de hipoclorito a 2% por 15 minutos. Após a desinfecção, as sementes foram lavadas

[3]É comum que as sementes distribuídas comercialmente apresentem contaminação por fungos, que quando encontram condições favoráveis se desenvolvem e inibem a germinação das sementes. Assim, é de suma importância o processo de desinfecção das sementes antes da realização do teste.

duas vezes com água destilada estéril para remover qualquer resíduo de hipoclorito que pudesse interferir no ensaio.

Quadro 6 – Composição da solução de micronutrientes para os ensaios de ecotoxicidade

Reagente	Quantidade
Água deionizada	20 L
$MgSO_4$	2,4 g
$NaHCO_3$	3,84 g
KCl	0,16 g
$CaSO_4 \bullet 2H_2O$*	2,4 g

Fonte: MORALES, 2004.

*A quantidade de $CaSO_4 \bullet 2H_2O$ deve ser diluída em 1 L de água desmineralizada, enquanto que os demais sais devem ser diluídos nos outros 19 L. Uma vez dissolvidos, os dois volumes podem ser misturados.

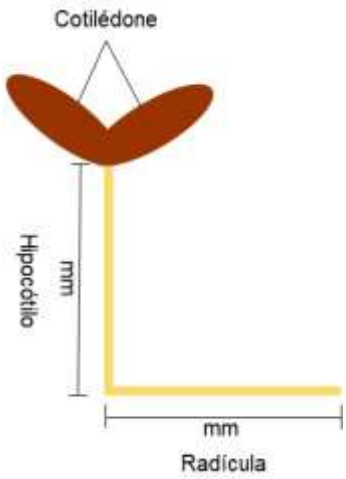
Para cada ensaio, 20 sementes de *Lactuca sativa* L foram distribuídas, com auxílio de pinça estéril, na superfície do papel de filtro que recobria o fundo de placas de Petri previamente esterilizada, e, em seguida, 4 mL de solução (teste ou controle) foram gotejados sobre o papel de filtro. As placas de Petri foram fechadas, vedadas com filme plástico e incubadas a 22±2ºC, e armazenadas sem exposição à luminosidade, por 5 dias.

Após a incubação, foram avaliados o percentual de germinação de sementes empregando a equação 1, comparando o número de sementes germinadas no ensaio controle (sem adição de proantocianidinas, apenas solução de micronutrientes) com os testes. Foram consideradas sementes germinadas todas aquelas que apresentaram o rompimento da casca e formação de hipocótilo e radícula (Figura 17) independente do seu comprimento.

$$\%GS = \left(\frac{GT}{GC}\right) * 100 \qquad \text{Equação 1}$$

Onde, %GS – Percentual de Germinação de Sementes; GT – Número de Sementes Germinadas no Teste; GC - Número de Sementes Germinadas no Controle.

Após a verificação da germinação das sementes, foi realizada a medida do crescimento das raízes com o auxílio de uma régua, considerando o tamanho da raiz a distância entre a base dos cotilédones até o final da radícula, conforme ilustrado na Figura 17.



Fonte: MORALES, 2004.
Figura 17 – Ilustração da medição das raízes (em mm), considerando desde o início dos cotilédones até a extremidade da radícula.

Uma vez que as medidas foram concluídas, a média aritmética do comprimento de todas as raízes germinadas no controle positivo e nos testes foram aplicados na equação 2 para a determinação do percentual de crescimento das raízes (MORALES, 2004).

$$\%CR = \left(\frac{CRT}{CRC}\right) * 100 \qquad \text{Equação 2}$$

Onde, %CR - percentual de crescimento das raízes. CRT – Crescimento das Raízes nos Testes (média); CRC - Crescimento das Raízes no Controle (média).

Os testes foram realizados em triplicata para a determinação do erro experimental e validação das informações produzidas.

4.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO BIOCIDA DAS PROANTOCIANIDINAS

A aplicação de biocidas é feita em diversos ramos da indústria e, obrigatoriamente, o composto ou a combinação de compostos em questão deve ter efeito sobre as principais espécies ou populações microbianas que podem estar presentes e interferir nos processos industriais. Em relação à indústria do petróleo, as principais populações microbianas envolvidas são bactérias heterotróficas, principalmente, as produtoras de exopolissacarídeos, as ferrobactérias e bactérias redutoras de sulfato, pois estão intimamente relacionadas à processos de corrosão (ARAÚJO, 2013).

Assim, inicialmente, a partir de uma amostra de água de torre de resfriamento foram isoladas e identificadas as espécies e populações microbianas a serem aplicadas nos ensaios

para avaliar o potencial biocida das proantocianidinas extraídas da fibra do coco através da determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI).

4.3.1 **Amostra de Água de Torre de Resfriamento**

A amostra de água utilizada para a obtenção dos microrganismos de interesse na biocorrosão foi obtida a partir da torre de resfriamento de uma refinaria com histórico de problemas com biocorrosão. No Quadro 7 são apresentadas as análises realizadas na água para a caracterização química, físico-química e microbiológica.

Quadro 7 – Análises e metodologias aplicadas para a caracterização do fluido de processo

Análises	Metodologias
Turbidez; pH; Nitrogênio; Alumínio; Cloreto; Dureza Total; Ferro; Condutividade; Sulfato; Flúor; Cl2; Oxigênio Dissolvido; Demanda química de oxigênio (DQO); Demanda bioquímica de oxigênio (DBO)	Metodologias descritas pelo Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater
Carbono total; Carbono orgânico total; Carbono inorgânico	Analisador de Carbono (Shimadzu TOC – VCPn)
Quantificação microbiana de bactérias heterotróficas totais cultiváveis, oxidantes de ferro e redutoras de sulfato	Número Mais Provável (NMP)

A caracterização química e físico-química, apresentadas no Quadro 7, foram realizadas utilizando metodologias padõres em colaboração com o Laboratório de Tecnologia Ambiental-LTA, vinculado ao departamento de Engenharia Bioquímica da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro; e com o Laboratório de Controle de Qualidade da Estação de Tratamento de Águas da unidade Laranjal da Companhia Estadual de Águas e Esgotos do Rio de Janeiro (CEDAE).

Enquanto que a caracterização microbiológica foi realizada no Laboratório de Biodegradação, Biocorrosão e Biossíntese, vinculado ao departamento de Engenharia Bioquímica da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro pela técnica do Número Mais Provável.

4.3.2 **Isolamento e Identificação de Microrganismos de Interesse na Biocorrosão**

A partir da amostra de água foram isolados e identificados microrganismos relacionados com processos corrosivos como, por exemplo, bactérias heterotróficas totais, em especial

espécies do gênero *Pseudomonas* (descritas pelo seu papel na produção de exopolissacarídeos e formação de biofilmes), ferrobactérias e bactérias redutoras de sulfato (BRS) (LIENGEN *et al.*, 2014).

A obtenção desses microrganismos/populações microbianas de interesse ocorreu a partir da concentração/enriquecimento da amostra de água utilizando soluções diluentes e meios de cultura correspondentes à população microbiana alvo, como é apresentado no Quadro 8. Para tanto, a água foi recebida em bombona, com capacidade para 40 L. Logo após o recebimento, a amostra foi devidamente homogeneizada e foram feitas 3 amostragens de 200 mL. Cada amostra foi filtrada em membrana com poro de 0,22 μm para reter os microrganismos e, consequentemente, concentrar a amostra.

Quadro 8 – Soluções diluentes e meios de cultura utilizados para o isolamento e manutenção dos microrganismos

Grupo microbiano	Solução diluente	Meio de cultura
Bactérias Heterotróficas cultiváveis	Solução fisiológica	Caldo nutriente
Ferrobactérias cultiváveis		Citrato férrico amoniacal
Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS)	Solução redutora	Postgate E modificado

Fonte: ARAÚJO, 2015.

O procedimento de concentração/enriquecimento e isolamento seguiram o fluxograma apresentado na Figura 18.

Sob condições assépticas em cabine de segurança biológica, as membranas foram removidas do aparato de filtração, transferidas para placas de Petri estéreis, raspadas e rinsadas com 10 mL de solução diluente, a suspensão celular obtida foi transferida para frascos contendo 90 mL de meio de cultura (Quadro 8).

Em relação ao cultivo de BRS, a suspensão celular obtida com o uso da solução redutora foi inoculada em Postgate E modificado e incubada a 35°±2ºC por 28 dias, quando se considerou como positivo frascos enegrecidos característicos da produção de sulfeto de ferro pelas bactérias redutoras de sulfato (BRS). Para essa população microbiana preferiu-se trabalhar com consorcio microbiano pela sua representatividade em relação às condições ambientais e a dificuldade de manutenção de culturas isoladas.

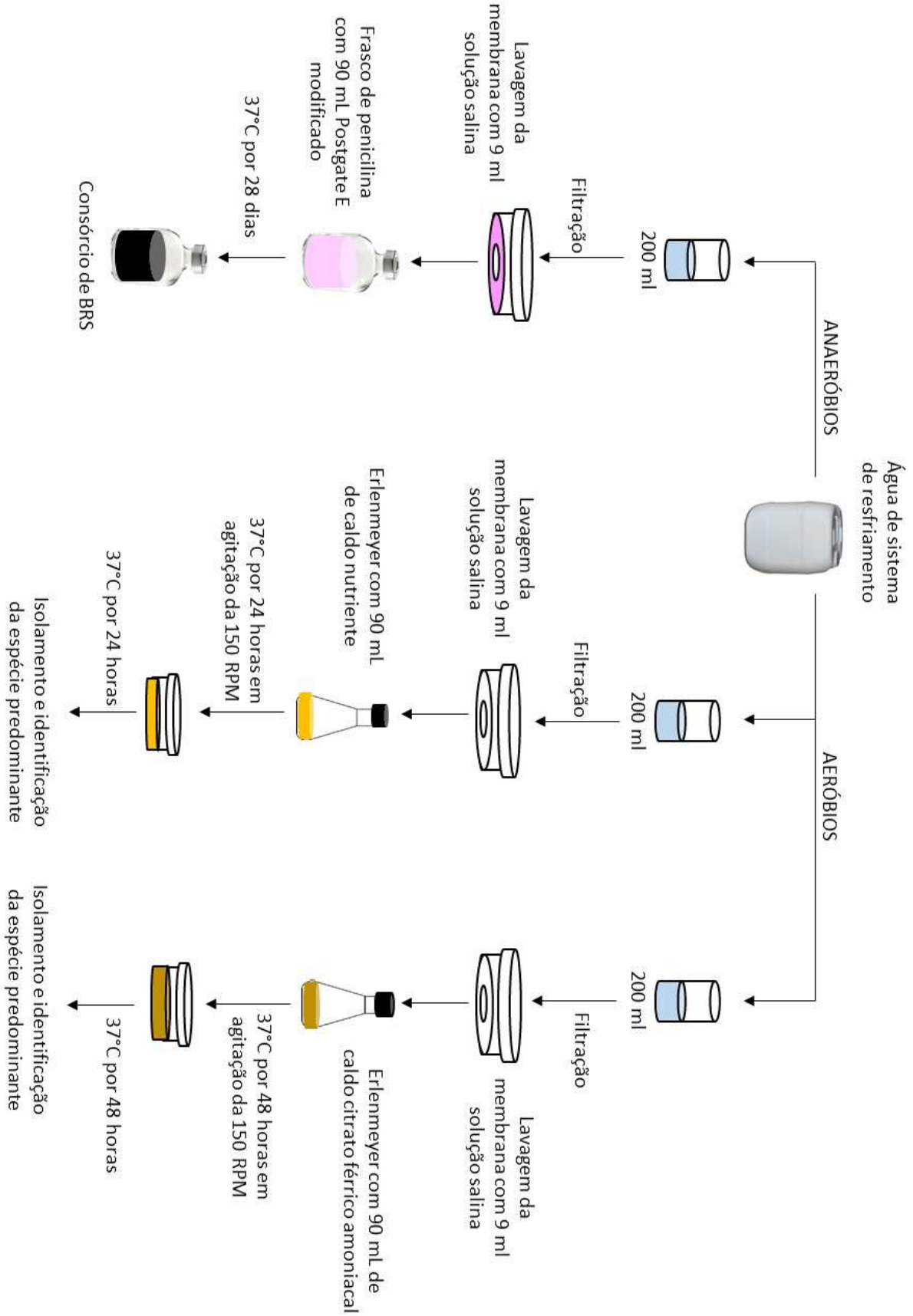


Figura 18 – Procedimento de concentração/enriquecimento dos grupos bacterianos de interesse e isolamento das espécies predominantes de bactérias heterotróficas e oxidantes de ferro.

Paralelamente, as suspensões celulares obtidas com solução salina foram inoculadas em frascos contendo caldo nutriente e caldo citrato férrico amoniacal e incubadas sob agitação de 150 rpm a 35°±2ºC por 24 e 48 horas, respectivamente. Em seguida, foi realizado o isolamento em meio sólido (de mesma composição, mas acrescido de 3% de agar) e as culturas foram repicadas por esgotamento para a obtenção de colônias isoladas. As culturas puras foram identificadas por método fenotípico e genotípico, descritos a seguir.

4.3.2.1 Identificação fenotípica dos microrganismos

A identificação fenotípica dos isolados foi realizada no aparelho VITEK® 2 SYSTEM (Biomérieux), no laboratório de Microbiologia do Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP), vinculado à Universidade Federal Fluminense (UFF) seguindo metodologia descrita por Miller e Pincus (2006).

4.3.2.2 Identificação genotípica dos microrganismos

As cepas isoladas tiveram seu DNA extraído e purificado com os *kits* comerciais *MOBio PowerMicrobial® Maxi DNA Isolation* e *MOBio UltraClean® Microbial DNA Isolation*, respectivamente. Após a purificação, as concentrações do DNA obtido foram determinadas por espectrofotometria no aparelho Nanodrop Espectrophotometer, modelo ND-1000.

Em seguida, um fragmento do DNA foi amplificado pela técnica de PCR (polymerase chain reaction) usando os *primers* Sadir (foward: 5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAGA-3') e S17 (reverse: 5'- GTTACCTTGTTACGACTT-3' (ALTSCHUL *et al.*, 1990) e o termociclador PCR System 9700, da Applied Biosystems.

Uma vez concluída a reação, o produto gerado foi visualizado por eletroforese em gel de agarose (1%, m/v), purificado com o *kit* comercial *MOBio Ultra Clean™ Purification*, e quantificado por espectrometria no aparelho Nanodrop Espectrophotometer, modelo ND-1000. Após obter a concentração e qualidade necessária, os produtos de PCR foram submetidos ao sequenciamento, na Universidade de São Paulo (USP), pelo método de Sanger, no equipamento ABI PRISM® 3100 GeneticAnalyzer/HITACHI. As sequências foram obtidas pelo tratamento dos dados recebidos com os *softwares* Chromas Lite e Bioedit permitindo a sua comparação com os dados disponíveis no GeneBank e, então, a identificação das culturas microbianas.

4.3.3 **Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI)**

A concentração mínima inibitória (CMI) foi determinada pelas técnicas de micro e macrodiluição seguindo o protocolo descrito pelo *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2018). A técnica de microdiluição foi aplicada para a determinação da CMI das espécies microbianas predominantes isoladas a partir do caldo nutriente e do citrato férrico amoniacal. No entanto, a técnica de macrodiluição foi feita adaptação pela substituição do meio Müller-Hinton pelo Postgate E modificado, uma vez que as BRS não seriam capazes de se desenvolver no meio de cultura indicado na metodologia.

4.4 ATIVIDADE DAS PROANTOCIANIDINAS COMO INBIBIDOR DE CORROSÃO

Os processos corrosivos sofrem interferência de diversos fatores como, por exemplo, a liga metálica, o eletrólito e as condições ambientais que o material é exposto (TALBOT e TALBOT, 2018). Portanto, serão descritos a seguir o eletrólito, os corpos de prova, as células de ensaio e as análises eletroquímicas realizadas nos ensaios para avaliar a interferência das proantocianidinas na corrosão.

4.4.1 **Fluido de Processo**

Para a realização dos ensaios foi utilizada uma solução sintética como eletrólito, simulando a composição de um fluido de sistema de resfriamento considerado como corrosivo. Essa solução era composta de 500 mg/L de cloreto (829 mg/L de NaCl), 150 mg/L de sulfato (222 mg/L de Na_2SO_4) e 150 mg/L de carbonato de cálcio ($CaCO_3$) (ELSAYED e ELSHAZLY, 2016; MENDES *et al.*, 2017). O ajuste do pH dependeu da condição de ensaio com aplicação de soluções de ácido clorídrico (HCl) 0,5M ou hidróxido de sódio (NaOH) 40% (m/v).

4.4.2 **Corpos de Prova**

O material metálico escolhido para o desenvolvimento deste trabalho foi o aço carbono AISI 1020, pois apresenta excelente custo-benefício e é amplamente usado nos mais diversos ramos industriais (FREITAS *et al.*, 2016). Para as análises eletroquímicas foram utilizados corpos de prova de 2 cm x 2 cm x 0,3 cm (altura x largura x espessura) conectados a um fio de cobre e embutidos em resina, deixando uma área exposta de aproximadamente 2 cm^2, conforme ilustrado na Figura 19.

Figura 19 – Corpos de prova de Aço Carbono AISI 1020 utilizado nos ensaios.

Um dos corpos de prova foi utilizado para a caracterização química do aço e, com base na sua caracterização, confirmar a sua classificação como aço carbono AISI 1020. Essa caracterização foi feita pela da técnica de espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS), cujo resultado é apresentado no Quadro 9.

Quadro 9 – Composição do Aço Carbono AISI 1020 utilizado nos ensaios

Elemento	C	P	Si	Mo	Mn	Fe
% em massa	0,20	0,01	0,09	0,01	0,45	99,25

Com base na composição química, o material metálico usado para a confecção dos corpos de prova utilizados nesse estudo pode ser classificado como aço carbono AISI 1020, confirmando a classificação prévia do fornecedor (CALLISTER e RETHWISCH, 2016).

Antes da utilização nos ensaios, os corpos de prova foram polidos com lixas de diferentes granulometrias (80, 120, 220, 320, 400, 500 e 600), lavados com água destilada, desengordurados com etanol P.A. e secos com jatos de ar quente. Esse procedimento visa homogeneizar a rugosidade e ativar a superfície metálica.

4.4.3 **Aparato Experimental para Realização dos Ensaios**

Em geral, ensaios de corrosão são conduzidos em células eletroquímicas convencionais de 3 (três) eletrodos, correspondentes a um eletrodo de trabalho, no qual as análises eletroquímicas serão feitas; um eletrodo de referência para a medição do potencial eletroquímico; e, um contra eletrodo feito de material inerte para o fechamento do circuito elétrico.

Nesse estudo, os corpos de prova de prova de aço carbono AISI 1020 (Figura 19B) foram utilizados como eletrodo de trabalho, o eletrodo de calomelano saturado foi aplicado como

eletrodo de referência e o eletrodo de platina foi usado como contra eletrodo. Os três eletrodos foram imersos no eletrólito, cuja composição variou de acordo com o ensaio, e utilizados para a obtenção dos dados fornecidos pelas análises eletroquímicas (item 4.4.4).

A Figura 20 ilustra uma célula eletroquímica de 3 eletrodos, mantida sob agitação branda e constante ao longo do tempo de duração do ensaio. Para a realização dos ensaios adotou-se a relação de 100 mL de eletrólito para cada eletrodo de trabalho.

Figura 20 – Ilustração de uma célula eletroquímica convencional de 3 eletrodos utilizada nos ensaios.

Duas células de ensaio distintas foram utilizadas nesse estudo para avaliar o efeito das proantocianidinas extraídas da fibra de coco como inibidor de corrosão. Os ensaios preliminares (item 4.4.6) foram conduzidos em células de vidro com capacidade de 800 mL, enquanto que os ensaios para avaliar o efeito da concentração, pH e temperatura na inibição da corrosão (item 4.4.7), foram realizados em células de vidro com capacidade para 120 mL.

Afim de evitar interferências eletromagnéticas que possam influenciar a obtenção dos dados, as células eram isoladas em Gaiolas de Faraday[4] e conectadas a um Potenciostato/Galvanostato AUTOLAB PGSTAT302N para a realização das análises eletroquímicas.

[4]A gaiola de Faraday é uma cabine que promove uma blindagem eletrostática, isolando o seu interior de interferências eletromagnéticas externas. Esse experimento foi conduzido por Michael Faraday em 1836 e demonstrou que uma superfície condutora eletrizada possui um campo elétrico nulo no seu interior, devido à distribuição homogênea das cargas na parte mais externa da superfície condutora (RAMOS, 2016).

4.4.4 **Análises Eletroquímicas**

As análises eletroquímicas são ferramentas imprescindíveis na compreensão do processo de corrosão. Portanto, por meio dos dados obtidos com o potencial a circuito aberto (OCP, do inglês *Open Circuit Potential*), a resistência de polarização linear (LPR, do inglês *Linear Polarisation Resistance*), as curvas potenciodinâmicas e a espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) foi possível avaliar a atividade das proantocianidinas extraídas da fibra do coco como inibidor de corrosão.

4.4.4.1 Potencial a Circuito Aberto (OCP)

O monitoramento dos valores do OCP, permite acompanhar a evolução dos processos que estão ocorrendo na superfície metálica. Por exemplo, o aumento do potencial indica a formação de filmes protetores, deslocando o potencial do metal para regiões passivação conforme pode ser observado no Diagrama de *Pourbaix*. Por outro lado, a redução do potencial sugere atividade de corrosão, seja ela localizada ou generalizada (GENTIL, 2012).

O OCP foi determinado pelo uso da célula convencional de 3 eletrodos pela conexão do eletrodo de trabalho (aço carbono AISI 1020), contra eletro e o eletrodo de referência ao Potenciostato/Galvanostato AUTOLAB PGSTAT302N. A frequência das medidas variou de acordo com o ensaio realizado e o valor considerado foi o potencial medido após 1 minuto de estabilidade da medida.

4.4.4.2 Resistência de Polarização Linear (LPR)

A LPR consiste em uma polarização induzida próxima ao potencial de corrosão, de modo que foi possível determinar o potencial (E_{corr}), a corrente (i_{corr}) ou densidade de corrente (J_{corr}) e a taxa de corrosão, bem como a resistência de polarização e os coeficientes anódicos e catódicos (SASTRI, 1998; SASTRI, 2011). Ademais, a partir dos dados de densidade de corrente de corrosão (J_{corr}) a eficiência do inibidor de corrosão foi estimada através da Equação 3 (SASTRI, 2011).

$$\text{IC (\%)} = \frac{J^0_{corr} - J'_{corr}}{J^0_{corr}} * 100 \qquad \text{Equação 3}$$

Onde, IC(%) – Percentual de Inibição de Corrosão; J^0_{corr} – Densidade de Corrente de Corrosão sem Proantocianidinas; J'_{corr}- Densidade de Corrente de Corrosão no ensaio.

Os dados referentes a LPR dos diferentes ensaios foram determinados pelo uso de células convencionais de 3 eletrodos conectados ao Potenciostato/Galvanostato AUTOLAB PGSTAT302N, através do *software* NOVA 2.0, a análise foi feita com variação de 20 mV em torno do potencial de corrosão, com velocidade de varredura de 0,33 mV/s.

4.4.4.3 Curvas Potenciodinâmicas

A variação do potencial de um metal pode ser feita pela aplicação de fontes externas de corrente. Com o auxílio de um potenciostato, é possível aplicar um potencial elétrico no metal e medir a corrente elétrica em resposta a esse estímulo, permitindo a construção de curvas potenciodinâmicas compostas pelos ramos catódico e anódico (SASTRI, 1998; SASTRI, 2011).

As curvas potenciodinâmicas foram construídas pelo uso de células convencionais de 3 eletrodos conectados ao Potenciostato/Galvanostato AUTOLAB PGSTAT302N, através do *software* NOVA 2.0, com a velocidade de varredura de 0,33 mV/s.

4.4.4.4 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE)

A espectroscopia de impedância eletroquímica é uma técnica não estacionária de grande relevância no estudo da corrosão, fornecendo informações sobre os processos envolvidos na interação da superfície metálica com o meio. Todavia, deve ser usada juntamente com outras técnicas eletroquímicas para sua interpretação e análise (CARVALHO, ANDRADE e BUENO, 2006; SASTRI, 2011; PAJKOSSI e JURCZAKOWISK, 2017; SACCO, 2018).

A aplicação da espectroscopia de impedância eletroquímica nos ensaios também foi realizada usando a célula convencional de 3 eletrodos conectados ao Potenciostato/Galvanostato AUTOLAB PGSTAT302N, usando o software NOVA 2.0 na faixa de frequência entre 100 KHz e 0,01 Hz, com uma amplitude senoidal de 10 mV.

4.4.5 **Ensaio de Avaliação das Proantocianidinas como Inibidor de Corrosão**

O potencial de proantocianidinas extraídas da fibra do coco como inibidor de corrosão foi verificado em um ensaio preliminar utilizando células eletroquímicas de três eletrodos conectados ao Potenciostato/Galvanostato AUTOLAB PGSTAT302N.

Esses ensaios foram conduzidos em células de vidro com capacidade de 800 mL, preenchidas com 500 mL de solução com diferentes concentrações de proantocianidinas (1 g/L; 0,8 g/L; 0,5 g/L; 0,2 g/L; e 0,1 g/L) diluídas no fluido de processo com ajuste para pH neutro (7,0±0,2). As células foram incubadas 30±2ºC por 72 horas com agitação branda e constante.

Na solução, foram imersos 5 corpos de prova de aço carbono AISI 1020 (Figura 19B) com 1 cm^2 de área exposta para a obtenção do OCP, potencial (E_{corr}) e densidade de corrente (J_{corr}) de corrosão, impedância, taxa de corrosão (estimada pela resistência de polarização linear) e curvas de polarização, no momento seguinte à imersão e, posteriormente, a cada 24 horas. A concentração das proantocianidinas extraídas da fibra do coco foi avaliada ao longo das 72 horas seguindo a metodologia descrita no item 4.1.4.

Concomitantemente, foi conduzido um ensaio controle contendo apenas o fluido de processo com ajuste para pH neutro (7,0±0,2) seguindo o mesmo procedimento e análises realizadas nos ensaios teste.

4.4.6 **Avaliação da Concentração de Proantocianidinas, pH e Temperatura na Inibição da Corrosão**

Os sistemas em que é feita a aplicação de inibidores de corrosão apresentam variações, principalmente, em relação à faixa de pH e temperatura (MENDES *et al.*, 2017). Sendo assim, elaborou-se uma matriz de planejamento fatorial completo com 2 níveis e 3 fatores, cuja matriz é apresentada no Quadro 10, de modo que seja possível compreender a interferência da temperatura, do pH e da concentração de proantocianidinas no fluido de processo sobre a inibição da corrosão.

Assim como o ensaio preliminar (item 4.4.6), as condições delineadas no Planejamento Experimental foram conduzidas em células eletroquímicas de três eletrodos. Entretanto, as condições descritas no Quadro 10 foram reproduzidas em células de vidro com capacidade de 120 mL, preenchidas com 100 mL de solução e incubadas, de acordo com a condição, por 24 horas.

Em cada condição, foi imerso 1 corpo de prova de aço carbono AISI 1020 (Figura 19B) para a obtenção do potencial (E_{corr}) e corrente (i_{corr}) de corrosão, impedância, taxa de corrosão (estimada pela resistência de polarização linear) e curvas de polarização, no momento seguinte à imersão e após 24 horas[5]. Concomitantemente à realização das condições delineadas na matriz do planejamento, foram conduzidos ensaios controles (sem adição de proantocianidinas) de modo que fosse possível o cálculo do percentual de inibição, aplicando a Equação 3 (Item 5.4.4.2).

[5]Considerando que a polarização para a construção das curvas potenciodinâmicas é uma metodologia destrutiva, a obtenção dos dados referente aos diferentes tempos foi feita com pela substituição dos eletrodos após a obtenção dos resultados no tempo zero.

Quadro 10 – Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 2^3 para avaliação da interferência do pH, temperatura e concentração de proantocianidinas na inibição do aço carbono AISI 1020 em 24 horas de imersão em solução sintética de sistema de refrigeração

Ensaio	pH	Temperatura (ºC)	Concentração (g/L)
1	6	30	0,1
2	8	30	0,1
3	6	80	0,1
4	8	80	0,1
5	6	30	1
6	8	30	1
7	6	80	1
8	8	80	1
Ponto Central (Triplicata)	7	55	0,5
Controle 1	6	30	-
Controle 2	6	80	-
Controle 3	8	30	-
Controle 4	8	80	-
Controle 5	7	55	-

4.4.6.1 Análise Estatística

A análise estatística dos resultados do planejamento fatorial foram realizadas pelo *software Design Expert* 7.0 considerando a taxa de corrosão (mm/ano), a resistência de corrosão (Ω) e a eficiência do inibidor como variáveis de resposta para analisar a influência do pH, temperatura (ºC) e concentração de proantocianidinas na inibição da corrosão do aço carbono AISI 1020.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse capítulo são apresentados os dados referentes às análises químicas das proantocianidinas extraídas da fibra da casca do coco verde *in natura* (*Cocos nucifera* L.) e a quantificação desses compostos polifenólicos no extrato aquoso. Na sequência, as proantocianidinas da fibra do coco são avaliadas quanto à sua ecotoxicidade, bem como a sua possível aplicação como biocida e inibidor de corrosão.

5.1 CARACTERIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DAS PROANTOCIANIDINAS

O extrato aquoso de proantocianidinas da fibra do coco, obtido por infusão, foi liofilizado e apresentou rendimento de 10,9±1,3 g de proantocianidinas/100 g de fibra de coco (MARTINS, 2016). O rendimento obtido indica que o coco não está entre as espécies vegetais com o maior teor de proantocianidinas, como, por exemplo, as espécies *Schinopsis balansae* (quebracho), *Schinopsis lorentzii* (quebracho colorado), *Acacia mearnsii* (acácia-negra), *Anadenanthera macrocarpa* (angico-vermelho) e *Halimium halimifolium* (sargaça) que possuem um conteúdo de proantocianidinas superior a 20% (HEMINGWAY e LAKS, 1992; MANFROI *et al.*, 2009; VENTER *et al.*, 2012a; VENTER *et al.*, 2012b; BRIGIDA e ROSA, 2003; REBAYA *et al.*, 2014; WÜRGER, MCGAW e ELLOF, 2014; BHAGWAT e HAYTOWITZ, 2015).

Contudo, considerando o montante disponível para a extração de proantocianidinas, as fibras do coco tornam-se uma alternativa interessante. Afinal, a indústria de alimentos, bebidas e cosméticos utiliza apenas parte do fruto, referente a água, polpa e óleo (RODRIGUES, MARTINS e BARROS, 2018), gerando mais de 2,5 milhões de toneladas de casca e fibra com potencial biotecnológico (FAOSTAT, 2015), inclusive para a extração de proantocianidinas. Portanto, é mais viável a extração de proantocianidinas a partir das fibras de coco, que são resíduos, do que a partir da derrubada de árvores, como ocorre, por exemplo, em relação às espécies *S. balansae*, *S. lorentzii* e *A. mearnsii*.

A presença de proantocianidinas nos tecidos vegetais tem função de proteção contra pragas e infecções, pela sua atividade antioxidante, antimicrobiana e inseticida (QUEIROZ, MORAIS e NASCIMENTO, 2002; DIXON, XIE e SHARMA, 2005; HE *et al.*, 2008; PARK *et al.*, 2011). Entretanto, o teor e a composição de proantocianidinas em uma espécie vegetal pode ser afetado pelas condições ambientais e nutricionais de cultivo (WEIDNER *et al.*, 2013; CARPENTER *et al.*, 2014).

A caracterização das proantocianidinas presentes na fibra do coco, feita por cromatografia líquida de alta performance (HPLC, do inglês, *high performance liquid chromatography*), indicou a presença compostos fenólicos monoméricos (catequina e epicatequina), oligoméricos (dímeros e trímeros) e poliméricos (com diferentes graus de polimerização) (MARTINS, 2016).

Uma das metodologias mais comuns para a quantificação de proantocianidinas em solução é descrita por Porter, Hrstich e Chan (1986). E, se baseia na hidrólise dos anéis fenólicos dessas moléculas em soluções aquosas ácidas, formando o cátion flavílico que assume coloração avermelhada (MARÇO, POPPI e SCARMINIO, 2008). Logo, as diferenças na composição química não impedem a utilização dessa metodologia para a quantificação de proantocianidinas em diferentes materiais vegetais (BEECHER, 2004; SUN e SPRANGER, 2005; SHOJI *et al.*, 2006; NOLLET e TOLDRÁ, 2012; SHAY, TROFYMOW e CONSTABEL, 2017).

Assim, para estimar a concentração de proantocianidinas em solução utilizou-se um extrato comercial para a construção de uma curva-padrão. Para tanto, utilizou-se como padrão um extrato aquoso de *Schinopsis lorentzii*, liofilizado, popularmente conhecido como quebracho, cuja composição é quase que na totalidade (>95%) de proantocianidinas (HEMINGWAY e LAKS, 1992; MANFROI *et al.*, 2009; VENTER *et al.*, 2012a; VENTER *et al.*, 2012b).

A curva padrão foi construída utilizando concentrações variando entre 0,02 a 10 g/, cujos resultados permitiram a geração de um modelo matemático confiável e representativo, com um valor de R^2 de 0,9792, para o cálculo da concentração de proantocianidinas presentes em solução (Equação 4).

$$y = 3{,}1334x - 0{,}3271 \qquad \text{Equação 4}$$

Onde, y – Concentração de proantocianidinas; x – absorbância medida em espectrofotômetro.

A aplicabilidade do modelo matemático gerado foi feita a partir do uso das absorbâncias obtidas na determinação de diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco em soluções aquosas pela técnica descrita por Porter, Hrstich e Chan (1986). Assim como na curva padrão, as concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco testadas variaram de 0,02 a 10 g/L.

Contudo, apenas as absorbâncias obtidas entre as concentrações de 0,1 e 10 g/L tiveram valores válidos estimados pela aplicação do modelo gerado na curva feita com o padrão

comercial. Portanto, apesar da confiabilidade e representatividade do modelo, a sua aplicação fica restrita a concentrações na faixa entre 0,1 e 10 g/L, que ainda assim atende as concentrações utilizadas nos testes realizados nesse estudo.

Vale ressaltar que a quantificação de soluções aquosas de proantocianidinas em concentrações superiores a 2 g/L devem ser diluídas, pois geram valores de absorbância superiores ao limite de linearidade em que a Lei de Lambert-Beer é válida (SWINEHART, 1962).

5.2 AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE DE PROANTOCIANIDINAS

A avaliação da toxicidade é uma etapa crucial em estudos de bioprospecção, pois um composto que apresente efeitos negativos ao meio ambiente têm a sua aplicação prática inviabilizada. A ecotoxicidade pode ser avaliada através de vários testes, utilizando diferentes metodologias e organismos (JONG *et al.*, 2009; GADE *et al.*, 2012; BOUR *et al.*, 2015; SCHIWY *et al.*, 2016; SPASIANO *et al.*, 2016; KOBETICOVÁ e CERN, 2017; VIJAYAKUMAR e VASEEHARAN, 2018; XIAO *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2018). A escolha da melhor metodologia para determinar a toxicidade varia, principalmente, com a aplicação de interesse do composto avaliado (DUAN *et al.*, 2018).

Testes baseados na germinação de sementes são amplamente utilizados na avaliação de compostos com potencial aplicação em meios aquosos, pois apresenta grande sensibilidade, além da rápida e fácil execução (LUO *et al.*, 2018). Dessa forma, como biocidas e inibidores de corrosão são aplicados periodicamente em fluidos industriais para o controle microbiológico e prevenção de corrosão (TROVATI, 2004; CHEIS, 2014), o teste de germinação de sementes foi escolhido para avaliar a toxicidade das proantocianidinas extraídas da fibra do coco.

A Figura 21 apresenta os registros fotográficos do ensaio de ecotoxicidade por germinação de sementes de *Lactuca sativa* (alface) em 5 dias de incubação. Na figura podem ser observadas as imagens dos controles positivo (Figura 21A) e negativo (Figura 21B), e dos testes com concentrações de proantocianidinas variando de 0,12 a 1 g/L (Figuras 3C, 3D, 3E e 3F).

A coloração marrom observada nos testes com proantocianidinas (Figuras 3C, 3D, 3E e 3F) se deve a coloração do extrato de proantocianidinas extraídas da fibra do coco, que se torna menos intensa com a diluição do extrato.

Como pode ser observado na Figura 21 houve germinação das sementes em todos os testes com proantocianidinas e no controle positivo. A inibição da germinação no controle negativo se deve a adição de cloreto de zinco numa concentração tóxica aos vegetais, com o intuito de inibir a germinação das sementes (MORALES, 2004).

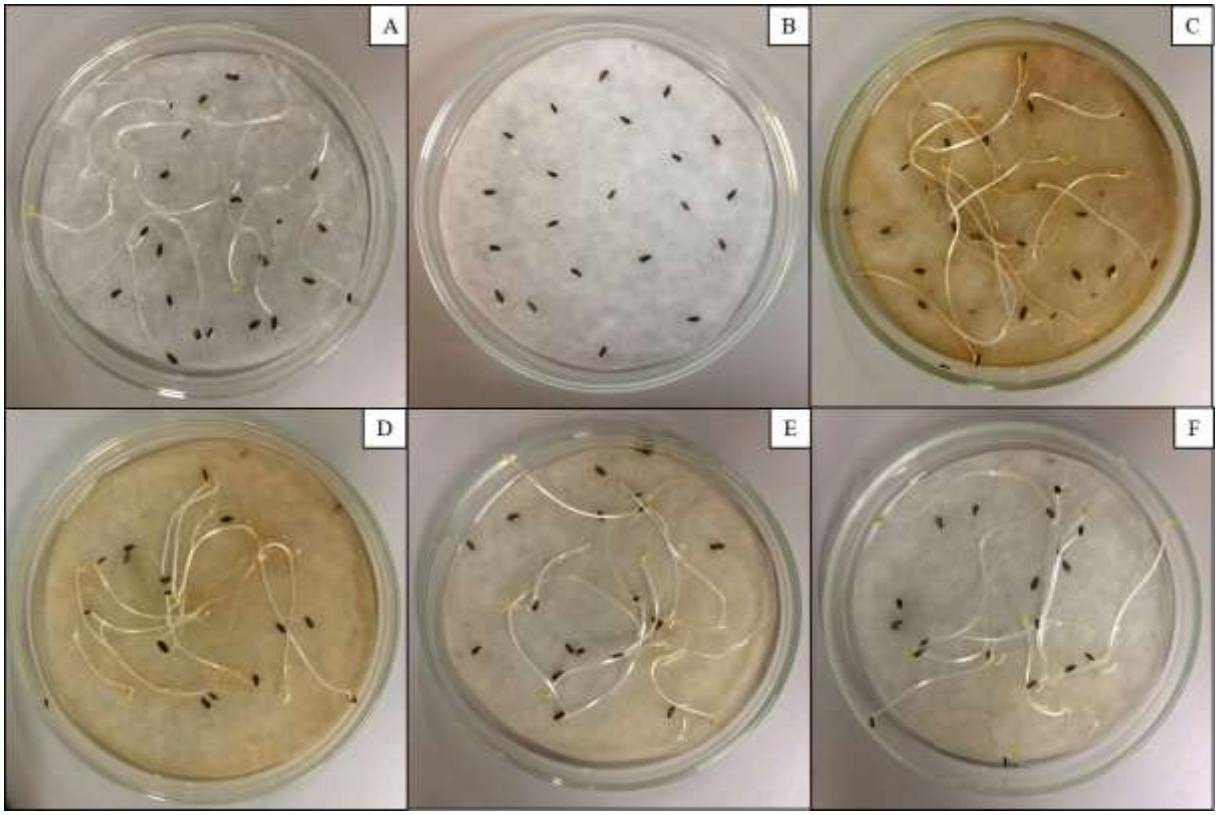


Figura 21 – Ensaio de ecotoxicidade por germinação das sementes de *Lactuca sativa* L em 5 dias de incubação nos controles positivo (A) e negativo (B) e em diferentes concentrações e proantocianidinas: (C) 1 g/L, (D) 0,5 g/L, (E) 0,25 g/L e (F) 0,12 g/L.

A interpretação da ecotoxicidade foi realizada pela comparação entre o número de sementes germinadas no controle positivo e nos testes aplicando a Equação 1 (Item 5.2). O ensaio de ecotoxicidade pela germinação de sementes foi conduzido em triplicata e na Tabela 1 são apresentados os valores médios e seus respectivos desvios-padrões.

Nos ensaios com diferentes concentrações de proantocianidinas foi observado entre 13 e 14 sementes germinadas. Sendo que os testes utilizando as concentrações mais altas (1 e 0,5 g/L), a média de sementes germinadas foi de 13 unidades, enquanto que nas concentrações mais baixas (0,25 e 0,12 g/L), a média de sementes germinadas foi igual à observada no controle positivo. Em termos percentuais, a germinação de sementes foi superior a 90% independente da concentração de proantocianidinas testada.

Tabela 1 – Teste de germinação de sementes de *Lactuca sativa* L para diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco

Ensaio	Germinação de sementes	
	Número de sementes germinadas	Percentual de sementes germinadas[a]
Controle Positivo	14±1	-
Controle Negativo	0	-
1 g/L de proantocianidinas	13±1	93±8,5
0,5 g/L de proantocianidinas	13±1	93±6,2
0,25 g/L de proantocianidinas	14±1	100±3,6
0,12 g/L de proantocianidinas	14±1	100±3,6

[a]Resultado da aplicação da Equação 1

Considerando o desvio padrão, cujos valores se mantiveram abaixo de 10%, não há diferença significativa entre os valores observados nas diferentes concentrações de proantocianidinas. Portanto, nas concentrações de proantocianidinas 0,12 a 1g/L, o efeito negativo na germinação de sementes pode ser considerado desprezível.

Além da determinação do percentual de sementes germinadas, foi feita a medição do tamanho das raízes para a avaliar o efeito das proantocianidinas no desenvolvimento das sementes. A medição das raízes, foi feita com o auxílio de pinças para prender as extremidades e minimizar erros de medição pela curvatura da raiz, utilizando régua graduada em milímetros.

A interpretação da ecotoxicidade utilizando sementes deve ser feita em conjunto do percentual de germinação de sementes e do alongamento de raízes. Afinal, o efeito negativo do composto avaliado pode não ser observado na germinação das sementes, mas sim no seu desenvolvimento e, consequentemente, na redução do tamanho de suas raízes (LI *et al.*, 2016; BELLINO *et al.*, 2018).

A interpretação de efeito negativo para a germinação de sementes apresenta discrepâncias entre os valores mínimos definidos para considera-lo significativo. Contudo, de um modo geral, resultados acima de 80% são aceitos para inferir que o composto analisado não apresente efeito tóxico na germinação das sementes. Em contrapartida, em relação à redução no tamanho das raízes, qualquer redução estatisticamente representativa deve ser considerada como um efeito negativo (RATTE, HAMMERS-WIRTZ e CLEUVERS, 2003).

Os dados relativos às medições das raízes de sementes de alface (*Lactuca sativa* L) nos testes e controles são apresentados na Tabela 2. É notório a variação do tamanho das sementes tanto no controle positivo quanto nos testes, por conta dos altos valores de desvio padrão. Avaliando os valores médios do tamanho das raízes, têm-se que houve maior desenvolvimento nos testes com adição de proantocianidinas extraídas da fibra do coco, independente da sua concentração. Aplicando a Equação 2 pode-se perceber ainda mais que o percentual de alongamento das raízes aumenta juntamente com aumento na concentração de proantocianidinas (Tabela 2).

Tabela 2 – Teste de alongamento das raízes de *Lactuca sativa* L para diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco

Ensaio	Crescimento das raízes	
	Tamanho (mm)	Percentual de alongamento[a]
Controle Positivo	25,2±11,9	-
Controle Negativo	0	-
1 g/L de proantocianidinas	38,1±7,1	151±18
0,5 g/L de proantocianidinas	36,0±7,3	142±20
0,25 g/L de proantocianidinas	34,9±10,1	138±29
0,12 g/L de proantocianidinas	33,9±9,4	134±28

[a]Resultado da aplicação da Equação 2

A avaliação da ecotoxicidade das proantocianidinas não foi referenciada previamente. Porém, comparativamente, pode-se relacionar sua toxicidade com a observada no ácido tânico[6], que não apresenta efeito tóxico, porém pode sofrer complexação com metais pesados formando complexos tóxicos ao ambiente (SANTOS *et al.*, 2013; ROCHA *et al.*, 2017). Os resultados obtidos nesse estudo, indicam que as proantocianidinas, assim como o ácido tânico, na ausência de metais pesados, não apresenta efeito negativo.

A toxicidade baixa ou inexistente de compostos para uso em larga escala é fundamental para garantir a sua aplicação e não comprometer os ecossistemas naturais. Os resultados obtidos nesse estudo estão em consonância com dados da literatura a baixa ou nula toxicidade de

[6]Composto fenólico, mas, diferentemente, das proantocianidinas é hidrolisável.

extratos de produtos naturais (CORBEL *et al.*, 2015; VIJAYAKUMAR *et al.*, 2017; VIJAYAKUMAR e VASEEHARAN, 2018; XIAO *et al.*, 2018).

Ademais, os resultados da ecotoxicidade apresentados ratificam a possibilidade do uso da proantocianidinas em estudos de bioprospecção a fim de garantir a promoção de danos com a sua liberação no ambiente (QUEIROZ, MORAIS e NASCIMENTO, 2002; DIXON, XIE e SHARMA, 2005; HE *et al.*, 2008; PARK *et al.*, 2011; CHAI *et al.*, 2017; CHAI *et al.*, 2018).

5.3 CARACTERIZAÇÃO DA ÁGUA DE SISTEMA DE REFRIGERAÇÃO

Sistemas de refrigeração são comuns em diversos setores industriais, inclusive a indústria petrolífera. A manutenção desses sistemas requer um controle eficiente das condições físico-químicas e microbiológicas, pois há o risco de formação de biofilmes e incrustações que podem levar à obstruções das estruturas e, consequentemente, o interrompimento das atividades industriais. para evitar problemas no funcionamento do setor industrial. Por isso, na maioria das vezes é feita aplicação de biocidas e inibidores de corrosão de forma contínua ou intermitente (TROVATI, 2004; CHEIS, 2014; PAYET-BURIN *et al.*, 2018).

Nesse estudo utilizou-se uma amostra de água de sistema de refrigeração de uma refinaria com histórico de biocorrosão para o isolamento dos microrganismos de interesse, observar os valores dos fatores físico-químicos capazes de estimular/intensificar processos corrosivos e definir a formulação da água sintética de sistema de refrigeração usada nos ensaios que avaliaram o potencial das proantocianidinas como inibidor de corrosão. Os dados dessa caracterização são apresentados na Tabela 3.

Em relação à corrosão eletroquímica, dos fatores físico-químicos apresentados na Tabela 3, os que apresentam maior influência na corrosão são as concentrações de cloreto, sulfato e carbonato (representado pelo valor da dureza) em solução. Os íons cloreto são importantes agentes na estimulação ou intensificação de processos corrosivos, principalmente, pela formação de ácidos que reduzem o pH do meio favorecendo a dissolução metálica. Ademais, essas moléculas formam compostos insolúveis que se depositam e podem levar à corrosão pela formação de pilhas de concentração ou por aeração diferencial (GENTIL, 2012).

Analisando a Tabela 3, nota-se que as concentrações de cloreto, sulfato e carbonato (referente ao parâmetro de dureza) estão bem acima da sugerida para os padrões de água potável, que são de até 300 mg/L, 250 mg/L e 0,3 mg/L, respectivamente (EPA, 2001; BRASIL,

2017), o que a define com grande potencial corrosivo ao aço carbono (MCNEILL e EDWARDS, 2001).

Tabela 3 – Caracterização físico-química e microbiologia de amostra de água de sistema de refrigeração de refinaria com histórico de biocorrosão

Análise	Resultado
Turbidez	1,74±0,2 uT
Alcalinidade	320±12 mg/L
Alumínio	0,06±0,01 mg/L
Cloreto	930±43 mg/L
Dureza Total	540±8,2 mg/L
Nitrogênio	-
Ferro	0,82±0,05 mg/L
Sólidos Totais em Suspensão	2042±88 mg/L
Condutividade	2,43±0,07 mS/cm
Sulfato	400±27 mg/L
Flúor	0,83±0,09 mg/L
Cl_2	<0,2±0,02 mg/L
Oxigênio Dissolvido	5,25±0,09 mg/L
Demanda química de oxigênio (DQO)	146±13 mg/L
Demanda bioquímica de oxigênio (DBO)	1612±21 mg/L
Carbono Total	72,1±3,9 mg/L
Carbono Inorgânico	19,1±0,7 mg/L
Carbono Orgânico Total	52,4±0,9 mg/L
pH	6,2±0,2
Bactérias Heterotróficas Totais Cultiváveis	$1,1 \times 10^6$ NMP/mL
Ferrobactérias Cultiváveis	$7,5 \times 10^5$ NMP/mL
Bactérias Redutoras de Sulfato	$<10^2$ NMP/mL

Além disso, a concentração de matéria orgânica e oxigênio dissolvido favorece o desenvolvimento microbiano na fase planctônica e, consequentemente, aumentam as chances de formação de biofilmes aderidos às superfícies internas dos trocadores de calor (DIAS-SOUZA, SOARES e SANTOS, 2017; NOGARA e ZARROUK, 2018; ZANG *et al.*, 2018).

Logo, com essas condições ambientais favoráveis, a caracterização microbiológica mostrou altas quantidades das bactérias aeróbicas, na ordem de 10^6 e 10^5 NMP/mL para bactérias heterotróficas totais e ferrobactérias, respectivamente. Possivelmente, a baixa quantificação de BRS (<10^2 NMP/mL), cuja maior parte das espécies são anaeróbias estritas, se deu pela disponibilidade de oxigênio dissolvido no fluido.

Considerando o teor de cloreto, sulfato e carbonato como os principais compostos químicos envolvidos nos processos de corrosão, eles tiveram suas concentrações definidas para a formulação da água sintética de sistema de refrigeração, usada nos ensaios da avaliação das proantocianidinas como inibidor de corrosão. A formulação da água sintética foi definida de modo que fosse considerada corrosiva, mas não tão agressiva quanto a amostra de água oriunda da torre de resfriamento da refinaria (Tabela 3) (NGUYEN *et al.*, 2011; NG e LIN, 2016; YANG *et al.*, 2016).

A composição para água sintética de sistema de refrigeração foi definida contendo concentrações de cloreto acima da recomendada e de sulfato e carbonato de cálcio dentro da faixa sugerida (EPA, 2001; BRASIL, 2017). Essa formulação teve por objetivo associar a corrosividade da solução à ação do cloreto que reduz o pH da solução e estimula a dissolução metálica, e não a deposição de compostos insolúveis (formados pelo sulfato e carbonato) que pudessem, inclusive, atrapalhar a compreensão da interação entre das proantocianidinas com a superfície metálica.

Como o pH também é um fator que interfere no processo de corrosão, levando à variação do potencial elétrico, causando a dissolução, passivação ou imunidade da superfície metálica (POURBAIX, 1964; TROVATI, 2004; NG e LIN, 2016; PAYET-BURN *et al.*, 2018). E, esse fator também foi considerado nos ensaios da avaliação das proantocianidinas extraídas da fibra do coco como inibidor de corrosão. Por isso, o pH variou de acordo com a condição estudada.

A necessidade do tratamento da água de sistemas de refrigeração com biocidas e inibidores de corrosão se dá pelo próprio funcionamento do sistema, em relação a água utilizada no abastecimento do sistema e a evaporação de parte do fluido no processo de resfriamento.

A água utilizada na alimentação do sistema é proveniente de fontes naturais ou de sistemas de tratamento e abastecimento de água. Consequentemente, pode apresentar diferentes espécies microbianas e carrearpç esses microrganismos para o interior dos sistemas (DIAS-SOUZA, SOARES e SANTOS, 2017; ZANG *et al.*, 2018). O aumento de temperatura do fluido no processo de resfriamento leva à evaporação da água e, por conseguinte, à concentração de

seus compostos químicos, principalmente sais, que intensificam as reações de corrosão como, por exemplo, sais de cloreto (NOGARA e ZARROUK, 2018).

5.4 OBTENÇÃO DOS MICRORGANISMOS DE INTERESSE NA BIOCORROSÃO

A caracterização microbiológica da amostra de água de sistema de refrigeração (Tabela 3) indicou a presença dos grupos microbianos de interesse para a realização desse estudo. Sendo assim, essas amostras foram concentradas/enriquecidas para o isolamento das espécies predominantes das heterotróficas totais e ferrobactérias cultiváveis e, para a obtenção de um consórcio de BRS.

A Figura 22 ilustra o crescimento dos grupos microbianos nos meios de cultura específicos (Item 5.3.1), após a concentração da amostra e incubação. Em relação às BRS (Figura 22C), após a obtenção do consórcio microbiano, ele foi mantido com repiques periódicos (a cada 15 dias) até a realização do teste para a determinação da concentração mínima inibitória das proantocianidinas. No caso do caldo nutriente com crescimento de bactérias heterotróficas totais (Figura 22A) e o caldo citrato férrico amoniacal com crescimento de ferrobactérias (Figura 22B) foram semeados meios sólidos para a observação e seleção das espécies predominantes.

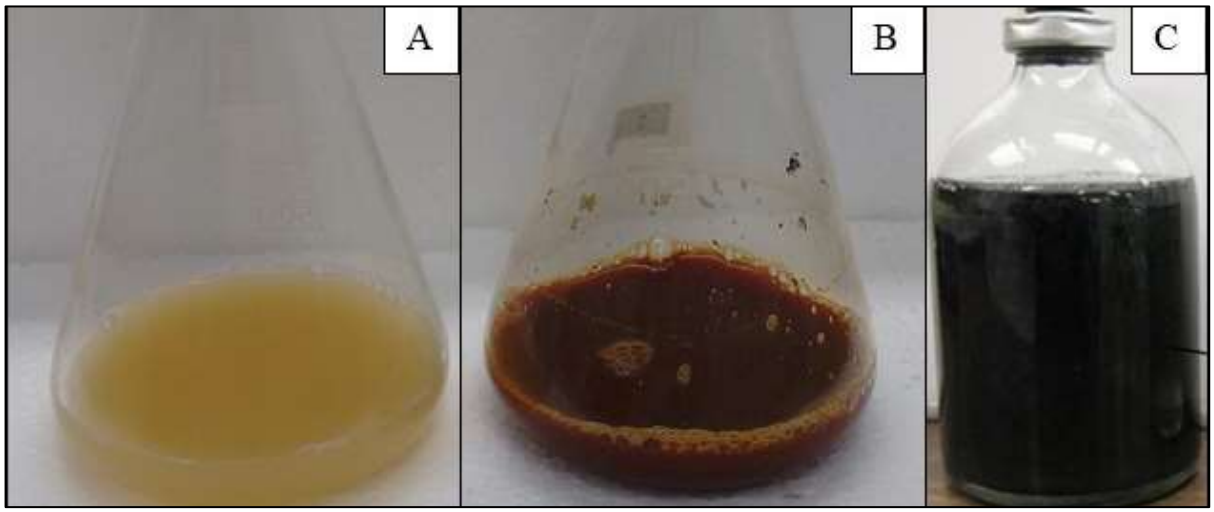


Figura 22 – Concentração/enriquecimento da amostra de água de sistema de refrigeração de refinaria com histórico de biocorrosão em: (A) crescimento de bactérias heterotróficas totais cultiváveis em caldo nutriente após 24 horas de incubação; (B) crescimento de ferrobactérias em citrato férrico amoniacal após 48 horas de incubação; e (C) crescimento de bactérias redutoras de sulfato (BRS) em Postgate E modificado após 15 dias de incubação.

Após o crescimento em meio sólido, verificou-se que entre a população de bactérias heterotróficas havia predominância de uma mesma colônia[7]. Enquanto que entre a população de ferrobactérias duas colônias com características macroscópicas distintas predominavam. Essas três colônias foram avaliadas quanto às suas características morfo-tintoriais, pela técnica de coloração de Gram[8]. Na observação microscópica, as três culturas se apresentaram como bastonetes Gram-negativos.

Essas colônias foram então repicadas por esgotamento para a obtenção de culturas puras e submetidas às técnicas fenotípicas e genotípicas de identificação, com os resultados apresentados no Quadro 11. A espécie predominante entre as bactérias heterotróficas foi identificada por metodologia fenotípica e confirmada por metodologia genotípica. Para as espécies predominantes de ferrobactérias, uma colônia foi identificada por metodologia fenotípica e confirmada pela genotípica, e a outra só foi identificada por metodologia genotípica, não sendo possível chegar ao nível de espécie.

Quadro 11 – Identificação das espécies predominantes entre as populações de bactérias heterotróficas totais e ferrobactérias isoladas de água de sistema de refrigeração de uma refinaria com histórico de biocorrosão

Grupo microbiano	Identificação da espécie predominante
Bactérias heterotróficas totais	*Pseudomonas aeruginosa*
Ferrobactérias	*Shewanella* sp*
	Acinetobacter baumanii

*A colônia bacteriana da espécie de *Shewanella sp*. foi identificada apenas pela técnica genotípica.

A predominância de espécie do gênero *Pseudomonas* era esperado. Em especial a *Pseudomonas aeruginosa* pois são bactérias ubíquas e frequentemente isoladas de amostras clínicas e ambientais, inclusive em amostras de água de sistema de refrigeração (IERVOLINO, MANCINI e CRISTINO, 2017; PEIX, RAMIREZ-BAHENA e VELÁZQUEZ, 2018). O estabelecimento da *P. aeruginosa* no interior de sistemas de refrigeração se dá ao fato da maioria das suas cepas serem produtoras de exopolissacarídeos que favorece a adesão celular e

[7]Conjunto de bactérias que se multiplicam a partir da mesma célula, formando uma população de vários indivíduos da mesma espécie.
[8]Técnica de coloração desenvolvida pelo médico dinamarquês Hans Christian Joachim Gram, em 1984, que utiliza como reagentes o cristal-violeta (corante), o lugol (solução de iodo), uma solução de etanol e acetona (descorante) e a fucsina (corante). A observação microscópica das bactérias submetidas a essa coloração diferencia as bactérias em Gram-positivas quando apresentam cor azul/violeta, coradas pelo cristal violeta; ou, em Gram-negativas quando apresentam cor rosa/vermelho, coradas pela fucsina.

formação do biofilme, que protegido pela matriz polimérica extracelular dificulta a ação dos biocidas usados para o controle microbiológico em sistemas de refrigeração (LIU *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2011; IERVOLINO, MANCINI e CRISTINO, 2017).

As ferrobactérias também são microrganismos considerados potencialmente "problemáticos" em sistemas de refrigeração, pela capacidade de precipitar íons ferro (Fe^{3+}), formando depósitos que obstruem as tubulações e dificultam o tratamento e funcionamento dos sistemas de refrigeração (LI *et al.*, 2018), conforme ilustrado no item 4.3.1.1.3. Nessa amostra de água foram isoladas duas espécies a partir do meio específico para ferrobactérias.

Diversas espécies do gênero *Shewanella* são descritas pela capacidade de oxidar Fe^{2+} em Fe^{3+}, formando os compostos insolúveis que se depositam nas tubulações entupindo-as e intensificando as reações de corrosão (XIAOUI *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2018; XING *et al.*, 2018).

Não há relatos na literatura sobre a participação de *Acinetobacter baumanii* como uma bactéria oxidante de ferro. Porém, estudos sobre infecções humanas por esse microrganismo indicam a existência de um sistema de sequestro e armazenamento de ferro do meio como mecanismo de virulência[9]. Pois, a redução da disponibilidade de ferro no organismo humano reduz o funcionamento das células de defesa, favorecendo o desenvolvimento da infecção (MORTENSEN e SKAAR, 2013).

Portanto, possivelmente, a predominância do *A. baumanii* no citrato férrico amoniacal era pela disponibilidade de ferro gerado pelo metabolismo das espécies de bactérias oxidantes de ferro, em particular *Shewanella* sp. Como *A. baumanii* não é classificado como uma ferrobactéria, esta cultura não foi considerada para o prosseguimento desse estudo.

Em relação às BRS, por serem anaeróbias estritas, ou no máximo aerotolerantes, a detecção de espécies isoladas em amostras ambientais é incomum, sendo mais frequente a observação de diferentes de espécies redutoras de sulfato (consórcios), associadas com bactérias aeróbias produtoras de exopolissacarídeos e oxidantes de ferro (LIU, YU e LIU, 2015; DEC *et al.*, 2016; JAVED *et al.*, 2017; MIRAN *et al.*, 2018).

[9]Mecanismo de virulência é o termo usado para se referir aos artifícios metabólicos e genéticos usados pelos microrganismos para evitar o combate à infecção pelas células de defesa do hospedeiro.

5.5 DETERMINAÇÃO DA CMI DAS PROANTOCIANIDINAS

O uso de biocidas, principalmente na área industrial, é a primeira barreira contra a prevenção e o controle do desenvolvimento microbiano. A aplicação de biocidas requer estudos prévios para o conhecimento das concentrações efetivas e os mecanismos de ação para a eliminação dos microrganismos alvo. Quanto menor a concentração capaz de exercer essa função melhor a eficiência do composto biocida (ASHRAF *et al.*, 2014; RIBEIRO, SIMÕES e SIMÕES, 2018).

A disponibilidade de biocidas comerciais é vasta, e pode ter seu princípio ativo a base de diversas moléculas, como, por exemplo, álcoois, aldeídos, ésteres, halogênios, ácidos orgânicos e inorgânicos e fenóis (ASHRAF *et al.*, 2014). Em especial, os biocidas a base de compostos fenólicos apresentam alta eficiência com poder de desinfecção em amplas faixas de temperatura e pH (KARSA, 2007; FALKIEWICZ-DULIK, JANDA e WYPYCH, 2015; ZHAO e CHEN, 2016).

Nesse estudo foi avaliado o potencial biocida de compostos fenólicos extraídos da fibra do coco, as proantocianidinas, por meio da determinação da concentração mínima inibitória para as espécies de *P. aeruginosa* e *Shewanella* sp. e para o consórcio de BRS. Os dados da CMI das proantocianidinas são apresentados na Tabela 4 e resultam de triplicatas.

Tabela 4 – Concentração mínima inibitória (CMI) das proantocianidinas extraídas da fibra do coco para as espécies/grupo microbiano de interesse na biocorrosão

Espécie/Grupo microbiano	CMI
Pseudomonas aeruginosa	3 g/L
Shewanella sp	3 g/L
Consórcio de BRS	2 g/L

Como pode ser observado na Tabela 4, a concentração mínima inibitória para *P. aeruginosa* e *Shewanella* sp. foi de 3 g/L, enquanto que para o consórcio de BRS foi de 2 g/L. Embora as proantocianidinas extraídas da fibra do coco tenham apresentado concentrações de inibição consideradas altas para aplicação industrial, esses dados são compatíveis com os descritos na literatura.

Compostos fenólicos extraídos de diversas espécies vegetais foram avaliados quanto ao seu potencial biocida para espécies de importância clínica e ambiental. De modo geral, bactérias

Gram-positivas são mais suscetíveis a ação desses compostos, principalmente pela menor complexidade da membrana celular quando comparada às bactérias Gram-negativas (ZARIN *et al.*, 2016; CARVALHO *et al.*, 2018).

Estudos anteriores relatam a susceptibilidade de espécies do gênero *Pseudomonas* às proantocianidinas. Entretanto, em alguns estudos a concentração mínima inibitória não foi definida. Como, por exemplo, o extrato aquoso de compostos fenólicos de leucena (*Leucaena leucocephala*) e do algodão-do-cerrado (*Cochlospermum regium*) avaliaram a concentração máxima de 0,5 e 1 g/L de proantocianidinas, respectivamente, e não foram capazes de inferir qual a concentração mínima de proantocianidinas para eliminar toda a população microbiana do teste (CARVALHO *et al.*, 2018).

Por outro lado, extratos aquosos de compostos fenólicos extraídos de sementes de uva (*Vitis vinifera*) e outros resíduos de frutas, apresentaram concentração mínima inibitória para espécies do gênero *Pseudomonas* variando entre 0,6 e 12 g/L (ADÁMEZ *et al.*, 2012; WIDSTEIN *et al.*, 2014). Permitindo relacionar os menores valores de MIC com os extratos aquosos de proantocianidinas cuja composição possui moléculas com maiores graus de polimerização (WIDSTEIN *et al.*, 2014). Possivelmente, pela maior resistência dessas moléculas à degradação, bem como sua atividade mais intensa (SIENIAWSKA e BAJ, 2017).

Widstein *et al.* (2014) estudaram o potencial biocida de compostos fenólicos extraídos de *Caesalpinia spinosa* (falso pau-Brasil), *Quercus infectoria* (noz-de-galha) e *Rhus coriaria* (sumagre) contra diversos microrganismos, inclusive espécies dos gêneros *Shewanella* e *Pseudomonas*. A composição química dos compostos fenólicos presentes nesses extratos é semelhante à observada no extrato aquoso de proantocianidinas extraídas da fibra do coco, apresentando concentrações mínimas inibitórias de aproximadamente 2,5 g/L para *Shewanella putrefaciens* e de 4 g/L para *Pseudomons fluorescens*, que são próximos aos valores de CMI descritos na Tabela 4.

Outras espécies do gênero *Shewanella* já foram testadas em relação ao efeito biocida de compostos fenólicos oriundos de material vegetal. Em relação ao extrato aquoso da casca de *Terminalia catappa* (amendoeira-da-praia), que apresenta teor baixo de proantocianidinas de aproximadamente 1,4 % (m/v) (MARQUES *et al.*, 2012), não foi possível determinar a CMI sendo o valor superior à máxima concentração testada, 5g/L (WEBSTER *et al.*, 2017).

Enquanto que, em relação à extratos aquosos de *Syzygium australe* (jambo) e *Syzygium luehmannii* (jambinho-cascata), que apresentam teores de proantocianidinas de 18 e 9 g/L,

respectivamente, a CMI para diversas espécies do gênero *Shewanella* variou entre 0,4 e 3 g/L (MURHEKAR *et al.*, 2017). O extrato aquoso de *S. luehmannii* apresenta teor de proantocianidinas semelhante ao observado na fibra da casca do coco, e apresentou valores de CMI de 3 g/L para as espécies de *Shewanella* sp. testadas (MURHEKAR *et al.*, 2017), demonstrando resultados iguais aos obtidos nesse estudo (Tabela 4).

Em relação às bactérias redutoras de sulfato, existem poucos estudos que relacionam compostos fenólicos com efeito biocida sobre esse grupo microbiano. Todavia, estudos da década de 1960 (BOOTH, 1960; BOOTH e MERCER, 1964) relacionavam a baixas concentrações de proantocianidinas (a partir de 0,1 g/L) com atividade na inibição do metabolismo de *Desulphovibrio desulphuricans*. Esses dados foram corroborados recentemente (WHITEHEAD, SPENCE e COTTA, 2013), indicando que concentrações de proantocianidinas acima de 0,1 g/L reduzem a produção de gases, como, metano (CH_4) e sulfeto de hidrogênio (H_2S) pelas bactérias redutoras de sulfato.

Contudo, análises moleculares do gene *dsrA* indicam que há uma redução do metabolismo celular entre 70 e 90% de acordo com a concentração de proantocianidinas, mas não há eliminação das espécies microbianas expostas às proantocianidinas (WHITEHEAD, SPENCE e COTTA, 2013).

Nesse estudo, para confirmar os valores da concentração mínima inibitória em relação às BRS (Tabela 4). Após o período de incubação das BRS expostas às diferentes concentrações de proantocianidinas, todos os frascos foram repicados para novos frascos de meio Postgate E modificado sem o biocida para verificar se ainda haviam espécies viáveis. Já que a literatura descreve que as proantocianidinas reduzem o metabolismo das BRS, mas não são capazes de eliminá-las.

Desse modo, o valor de CMI encontrado para a proantocianidinas extraídas da fibra do coco para BRS foi de 2 g/L, que é uma concentração 4 vezes maior que a máxima concentração testada nos estudos anteriores (BOOTH, 1960; BOOTH e MERCER, 1964; WHITEHEAD, SPENCE e COTTA, 2013)

A ação dos compostos fenólicos extraídos de produtos naturais como biocida podem apresentar diversos mecanismos de ação (ZHANG *et al.*, 2008; ELIZONDO *et al.*, 2010; ZARIN *et al.*, 2016; CARVALHO *et al.*, 2018), mas sempre relacionados à inibição de enzimas, como, por exemplo: (1) inibição de enzimas antioxidantes, que inviabilizam a degradação de radicais livres no interior da célula até níveis tóxicos; e, (2) inibição das enzimas que sintetizam ácidos graxos e, consequentemente, impedindo o reparo de danos à membrana celular.

5.6 AVALIAÇÃO DAS PROANTOCIANIDINAS COMO INBIBIDORES DE CORROSÃO

A aplicação de inibidores de corrosão visa proteger as superfícies metálicas, seja pela inibição das reações anódicas (inibidor anódico) e catódicas (inibidor catódico) dos processos corrosivos, ou pela formação de filmes protetores na superfície metálica (inibidores mistos ou de adsorção) (GENTIL, 2012). De modo geral, os produtos naturais estudados como inibidores de corrosão são moléculas orgânicas que formam filmes protetores na superfície metálica (SASTRI, 2011), como é o caso das proantocianidinas, que são compostos fenólicos poliméricos.

Inicialmente, foi verificado o efeito das proantocianidinas extraídas da fibra do coco no potencial de circuito aberto. O corpo de prova de aço carbono AISI 1020 imerso na solução de água sintética de água de sistema de refrigeração ao longo de 72 horas, apresentou o potencial médio de circuito aberto variando do valor inicial de -400 mV_{ECS}[10] até o valor final de -720 mV_{ECS}. Enquanto que o corpo de prova imerso em solução de água sintética, contendo diferentes concentrações de proantocianidinas, apresentou potencial de circuito aberto médio inicial de -700 mVECS que se manteve constante até o fim do período de imersão, independente da concentração de proantocianidinas, conforme ilustrado na Figura 23.

A diminuição gradativa do potencial de circuito aberto no corpo de prova imerso apenas na solução sintética água de sistema de refrigeração, provavelmente, se deve à formação de produtos de corrosão aderidos na superfície metálica reduzindo a velocidade de corrosão. Por outro lado, na presença das proantocianidinas extraídas da fibra do coco a estabilidade dos valores de OCP desde o tempo zero são indicativo da ação protetiva dessas moléculas na superfície do aço carbono AISI 1020 (SASTRI, 1998; SASTRI, 2011).

Juntamente com o acompanhamento do potencial de circuito aberto, observou-se a concentração das proantocianidinas em solução na presença e na ausência de corpos de prova de aço carbono AISI 1020 ao longo do tempo de imersão. Nas primeiras horas não foi observada redução significativa na concentração das proantocianidinas em solução, porém após 12 e até 72 horas pode-se observar uma redução progressiva na concentração de proantocianidinas em solução de 5 a 40%. Essa redução progressiva corrobora a hipótese de formação de um filme protetor na superfície metálica, de modo que os compostos fenólicos saem da solução e adsorvem na superfície metálica.

[10]Os valores de potencial obtidos utilizaram como referência um eletrodo de calomelano saturado (ECS).

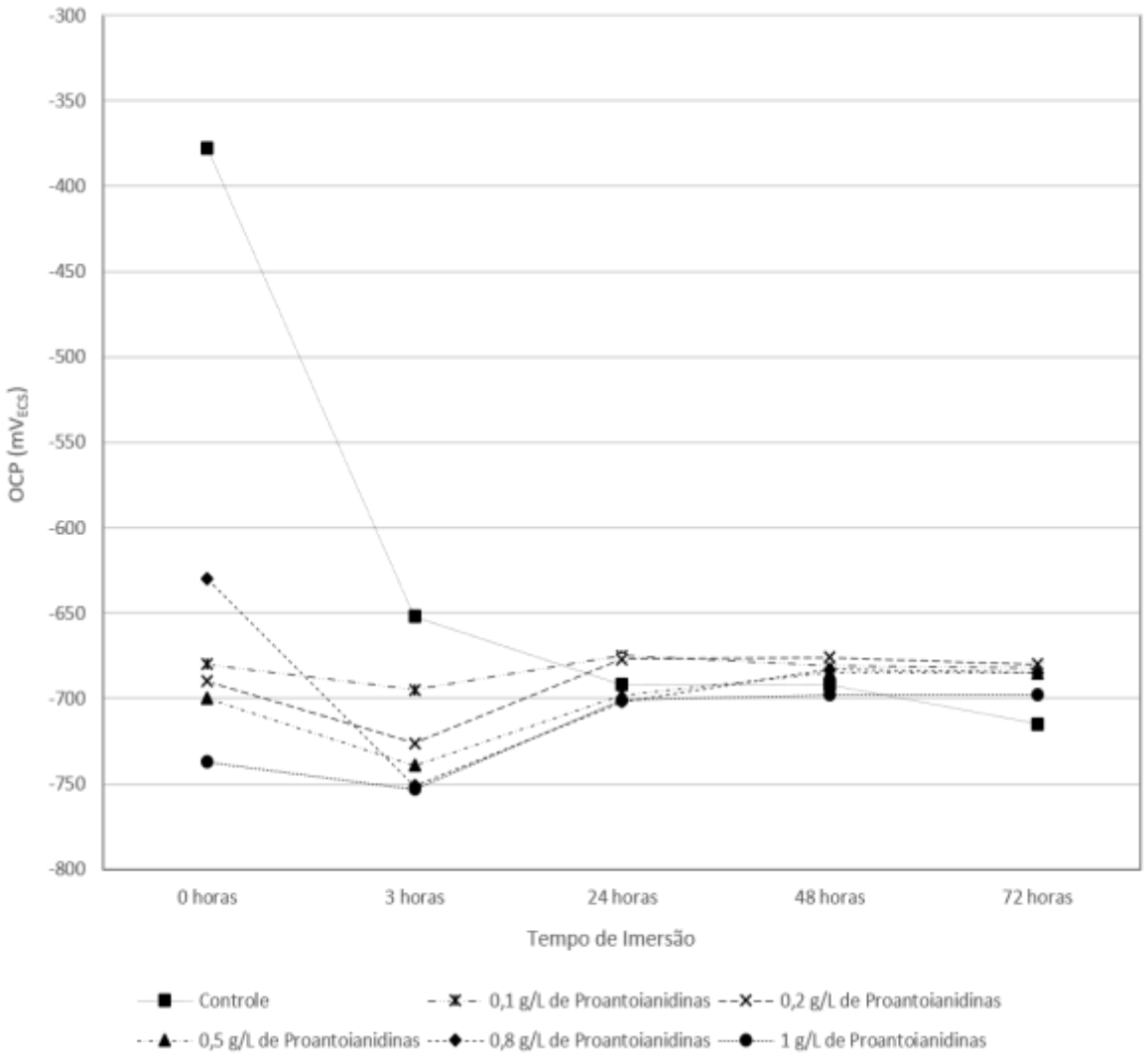


Figura 23 – Medições do Potencial em Circuito Aberto no controle (sem adição de proantocianidinas) e em diferentes concentrações de proantocianidinas em solução ao longo de 72 horas de imersão.

O conhecimento do mecanismo de ação de um inibidor pode ser verificado pelo perfil observado na curva potenciodinâmica. Afinal, inibidores anódicos e catódicos aumentam e reduzem o potencial de corrosão, respectivamente. Enquanto que inibidores de corrosão de adsorção interferem tanto no ramo anódico e catódico (GENTIL, 2012).

As curvas de polarização de proantocianidinas extraídas da fibra de coco para o aço carbono AISI 1020 ao longo das 72 horas de duração do ensaio são apresentadas nas Figuras 24, 25, 26, 27 e 28. É possível observar que nas primeiras horas de imersão (Figuras 24 e 25), independente da concentração de proantocianidinas, há redução no potencial de corrosão e na

densidade de corrente em todo o ramo catódico, indicando um perfil de inibidor de corrosão catódico (SASTRI, 2011; GENTIL, 2012).

A partir das 24 horas de imersão (Figuras 26, 27 e 28), as curvas de polarização dos corpos de prova imersos na ausência e em diferentes concentrações de proantocianidinas apresentam valores e perfis muito semelhantes. Esse mesmo perfil foi observado por Peres, Cassel e Azambuja (2012) estudando o efeito do extrato aquoso de proantocianidinas extraídas de acácia-negra (*Acacia mearnsii*) como inibidor de corrosão em soluções ácidas (pH de 2,5 e 6,0) de sulfato de sódio 0,1 mol/L.

Esse comportamento, pode estar relacionado à redução da concentração de proantocianidinas extraídas da fibra do coco em solução, reduzindo sua a capacidade de recompor o filme protetor. Porém, a análise da taxa de corrosão (Quadros 12-16) indica que nos ensaios com as concentrações mais altas (0,8 e 1 g/L) a taxa de corrosão se manteve baixa mesmo após as 72 horas de imersão sem a reposição da concentração de proantocianidinas em solução.

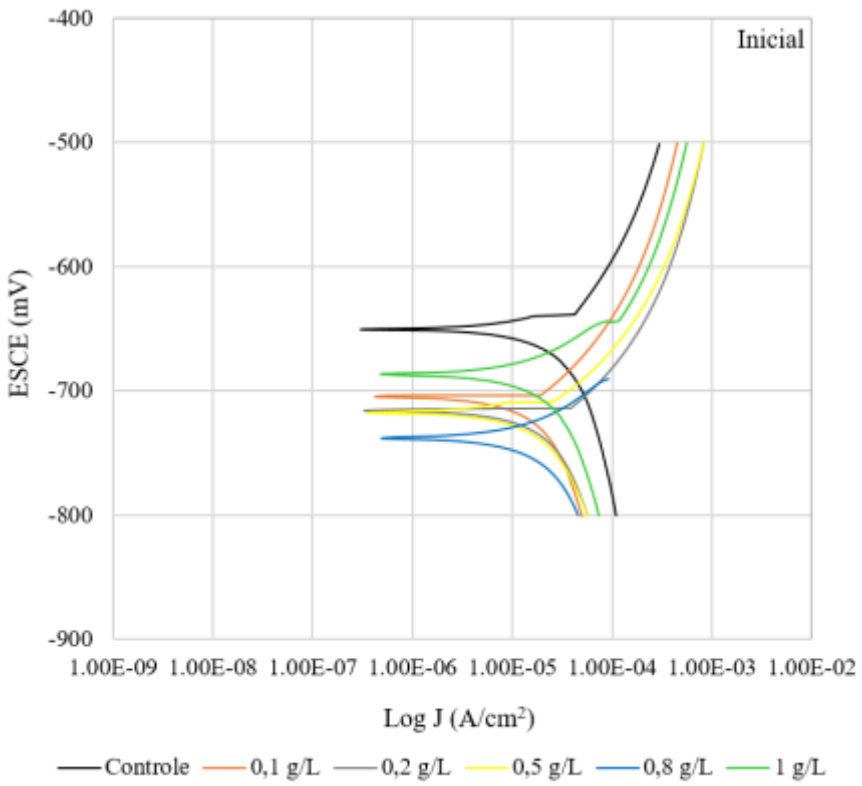


Figura 24 – Curvas de polarização para aço carbono AISI 1020 imerso em solução com diferentes concentrações de proantocianidinas logo após a imersão.

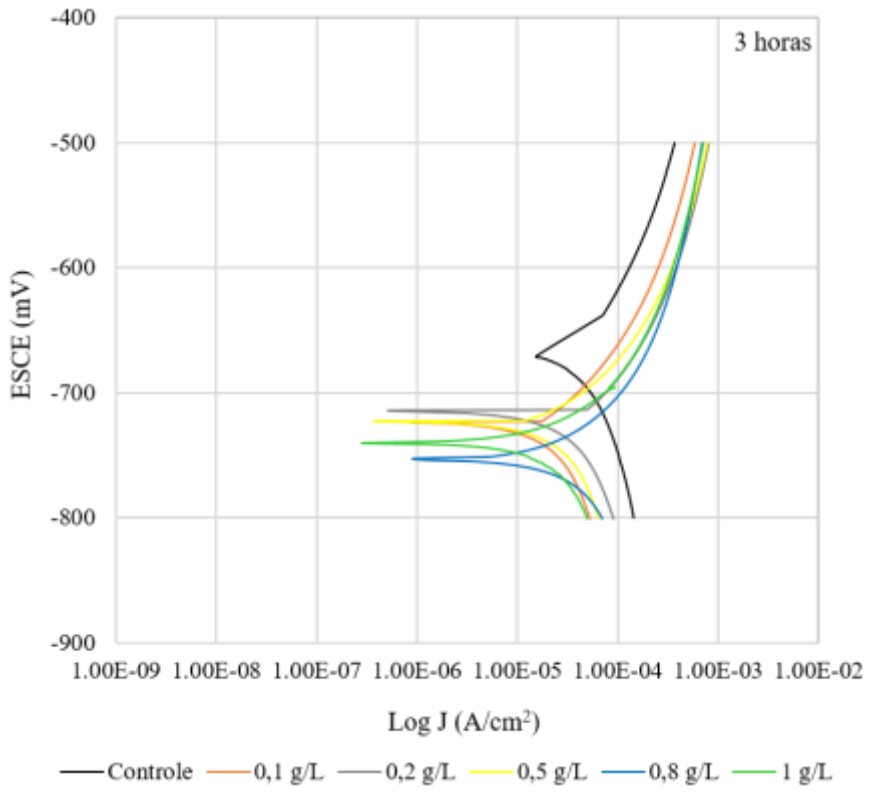


Figura 25 – Curvas de polarização para aço carbono AISI 1020 imerso em solução com diferentes concentrações de proantocianidinas após 3 horas de imersão.

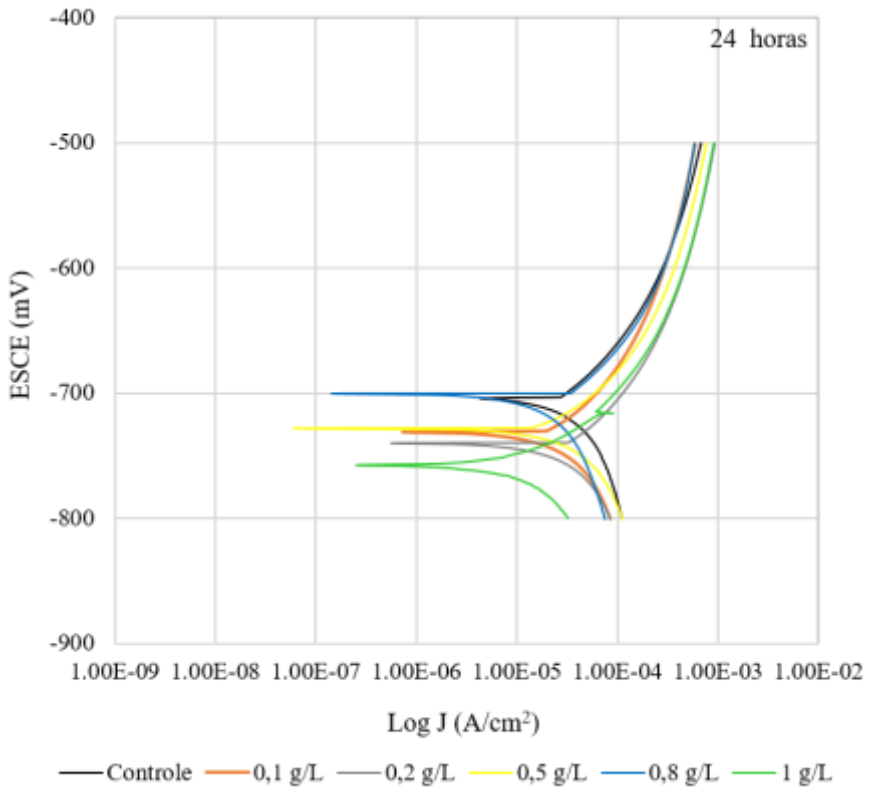


Figura 26 – Curvas de polarização para aço carbono AISI 1020 imerso em solução com diferentes concentrações de proantocianidinas após 24 horas de imersão.

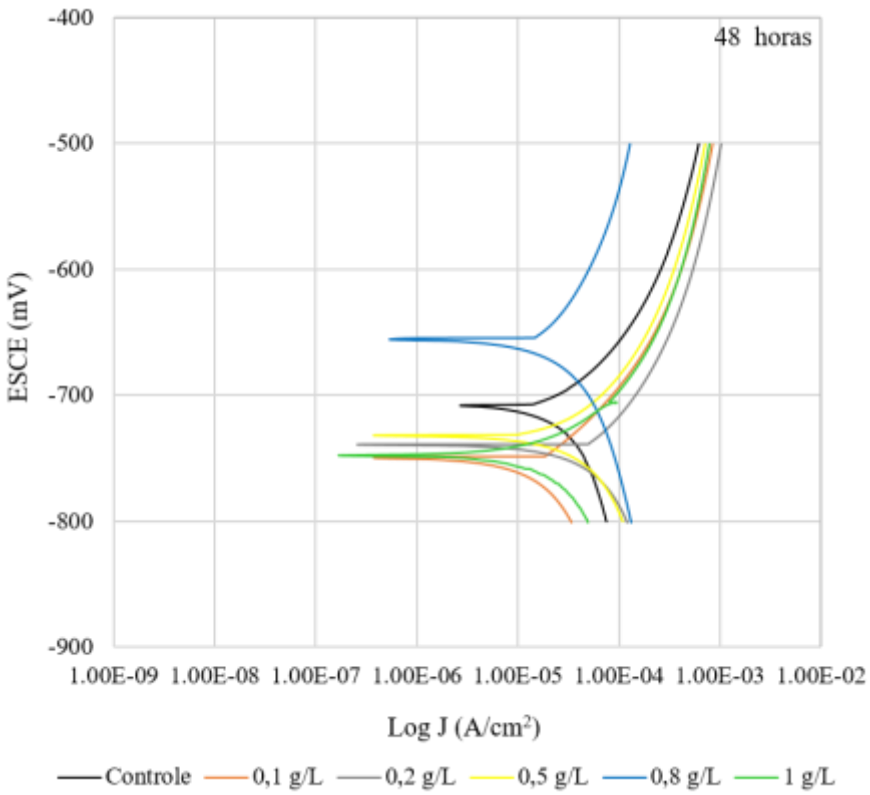


Figura 27 – Curvas de polarização para aço carbono AISI 1020 imerso em solução com diferentes concentrações de proantocianidinas após 48 horas de imersão.

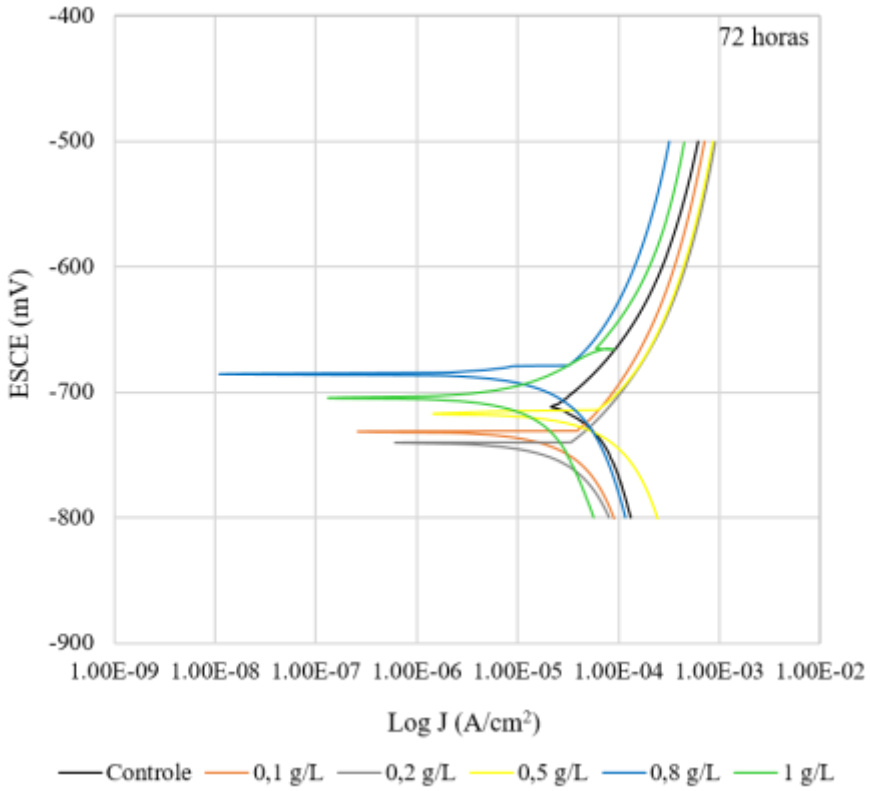


Figura 28 – Curvas de polarização para aço carbono AISI 1020 imerso em solução com diferentes concentrações de proantocianidinas após de 72 horas.

Com exceção da Figura 24, é possível perceber que a presença de proantocianidinas em solução é capaz de reduzir a corrente de corrosão. Tal observação pode ser melhor analisada nos Quadros 12-16 que apresentam os parâmetros Tafel, mas não foi possível estabelecer uma relação entre a redução na corrente de corrosão e a taxa de corrosão. Possivelmente, porque nos ensaios em que a formação do filme protetor não foi eficiente, mesmo com uma menor corrente de corrosão a taxa de corrosão foi maior quando comparada com o ensaio controle.

Muito embora as curvas potenciodinâmicas das primeiras horas (Figuras 23 e 24) indiquem que as proantocianidinas sejam inibidores de corrosão catódicos, as imagens apresentadas na Figura 29 mostram a formação de uma película preta/marrom escura aderida na superfície metálica nas maiores concentrações testadas (0,8 e 1 g/L), sugerindo que as proantocianidinas se comportam também como inibidores de adsorção.

Na Figura 29 é possível perceber uma evolução na formação da película preta na superfície do corpo de prova de aço carbono AISI 1020 de acordo com o aumento na concentração de proantocianidinas em solução. No controle e nos corpos de prova imersos em soluções contendo 0,1 e 0,2 g/L de proantocianidinas nota-se a coloração alaranjada de óxidos de ferro (formados pela corrosão). Já na concentração de 0,5 g/L de proantocianidinas é possível observar uma coloração mista entre o preto, referente ao filme protetor, e o alaranjado, característico dos produtos de corrosão. Apenas a partir da concentração de 0,8 g/L foi possível observar apenas a cor preta na superfície metálica.

Compostos fenólicos extraídos de diversas espécies vegetais já foram avaliados quanto ao seu potencial anticorrosivo para diferentes ligas metálicas expostas a diversas soluções corrosivas, descrevendo a formação de uma película protetora (MARTINEZ e STAGLJAR, 2003; RAHIM *et al.*, 2007; TAN e KASSIN, 2011; PERES, CASSEL e AZAMBUJA, 2012; PERES *et al.*, 2015; SAXENA *et al.*, 2018; ZIMOZINSK *et al.*, 2018).

Essa película escura protetora apresenta coloração variável de acordo com a espécie vegetal que os compostos fenólicos são extraídos, podendo assumir tons de preto (como observado nesse estudo), azul (proantocianidinas da acácia-negra) e marrom (ácido tânico). Essa coloração é resultante da interação entre os compostos fenólicos e os produtos de corrosão, estabilizando a superfície metálica e reduzindo a taxa de corrosão (RAHIM *et al.*, 2007; TAN e KASSIN, 2011; ZIMOZINSK *et al.*, 2018).

Figura 29 – Representação fotográfica dos corpos de prova de aço carbono AISI 1020 após 24 horas de imersão em diferentes concentrações de proantocianidinas.

Os parâmetros eletroquímicos, obtidos pela técnica de resistência à polarização linear (LPR), para o aço carbono AISI 1020 imerso em soluções de água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas por 72 horas são apresentados do Quadro 12 ao Quadro 16. Nesses quadros é possível observar os coeficientes anódicos ($\beta_{anódico}$) e catódicos ($\beta_{catódico}$), o potencial (E_{corr}) e a densidade de corrente (J_{corr}) de corrosão, a taxa de corrosão e a resistência de polarização do metal que permitem analisar as reações que ocorrem na superfície metálica e verificar o efeito das diferentes concentrações de proantocianidinas na corrosão do aço carbono AISI 1020.

Logo após a imersão (Quadro 12) os valores obtidos nos diferentes parâmetros reduzem na presença de proantocianidinas, indicando uma interferência no estabelecimento das áreas anódicas e catódicas e, consequentemente, na corrosão. Isso pode ser observado principalmente, em relação a J_{corr} e taxa de corrosão, onde há diferenças superiores a uma ordem de grandeza entre os dados do controle (sem adição de proantocianidinas) e dos testes (com diferentes concentrações de proantocianidinas).

Após 3 horas de imersão (Quadro 13) o perfil dos dados é o inverso, verificando uma taxa de corrosão menor na ausência de proantocianidinas. Possivelmente, as interações entre as proantocianidinas em solução e a superfície metálica não tiveram tempo suficiente para a formação de uma película eficiente na inibição da corrosão na superfície metálica. Ressalta-se que essa formação ineficiente intensifica o processo de corrosão. Essa observação é comum em inibidores de adsorção (SASTRI, 2011).

No Quadro 14 estão dispostos os dados após 24 horas de imersão. É possível identificar o estabelecimento de um perfil de proteção eficiente nas concentrações de 0,8 e 1 g/L de proantocianidinas extraídas da fibra do coco. Nas concentrações mais baixas, possivelmente não há compostos fenólicos poliméricos em concentração suficiente para a formação da película protetora eficiente. Esses dados corroboram que a evolução da formação de uma película protetora na superfície metálica, mostrada na Figura 25, é dependente da concentração,

confirmando as informações descritas previamente na literatura (RAHIM *et al.*, 2007; TAN e KASSIN, 2011; ZIMOZINSK *et al.*, 2018).

Quadro 12 – Parâmetros eletroquímicos do aço carbono AISI 1020 imediatamente após a imersão em água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco

Concentração de proantocianidinas (g/L)	$\beta_{anódico}$ (V/dec)	$\beta_{catódico}$ (V/dec)	E_{corr} (mV)	J_{corr} (A/cm^2)	Taxa de corrosão (mm/ano)	Resistência de polarização (Ω)
0	0,068831	0,14216	-738,69	2,0286E-05	0,23572	992,8
0,1	0,012795	0,009778	-666,01	2,0555E-06	0,02388	1171,1
0,2	0,023122	0,0187	-667,68	6,7127E-06	0,07801	668,9
0,5	0,020074	0,017102	-669,02	6,3746E-06	0,07407	629,2
0,8	0,02824	0,022304	-693,19	4,1106E-06	0,04777	1316,6
1	0,02827	0,02512	-675,04	5,1651E-06	0,06002	1118,3

Quadro 13 – Parâmetros eletroquímicos do aço carbono AISI 1020 após 3 horas de imersão em água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco

Concentração de proantocianidinas (g/L)	$\beta_{anódico}$ (V/dec)	$\beta_{catódico}$ (V/dec)	E_{corr} (mV)	J_{corr} (A/cm^2)	Taxa de corrosão (mm/ano)	Resistência de polarização (Ω)
0	0,038681	0,032951	-669,93	8,1191E-06	0,09434	951,8
0,1	0,051876	0,057989	-728,49	1,0756E-05	0,12498	1104,5
0,2	0,043828	0,047927	-719,29	1,3343E-05	0,15504	745,1
0,5	0,059208	0,092763	-728,96	1,6909E-05	0,19648	928,3
0,8	0,064269	0,046708	-754,24	2,0189E-05	0,23460	581,9
1	0,074587	0,098883	-746,69	2,1097E-05	0,24515	875,2

Com 48 horas de imersão (Quadro 15) nota-se que o perfil de proteção do metal nas concentrações de 0,8 e 1 g/L de proantocianidinas extraídas da fibra do coco se intensifica. Esse comportamento indica que mesmo com a redução de aproximadamente 30% na concentração das proantocianidinas em solução o filme protetor ainda é capaz de se manter estável e eficiente. Contudo, após 72 horas (Quadro 16) a eficiência de proteção das proantocianidinas extraídas da fibra do coco começa a reduzir, possivelmente pela concentração insuficiente dessas moléculas em solução para a reposição da degradação do filme protetor. Possivelmente, a reposição do inibidor reestabeleceria seria capaz de restabelecer a capacidade protetora.

Quadro 14 – Parâmetros eletroquímicos do aço carbono AISI 1020 após 24 horas de imersão em água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco

Concentração de proantocianidinas (g/L)	$\beta_{anódico}$ (V/dec)	$\beta_{catódico}$ (V/dec)	E_{corr} (mV)	J_{corr} (A/cm^2)	Taxa de corrosão (mm/ano)	Resistência de polarização (Ω)
0	0,088174	0,090935	-703,96	3,0112E-05	0,34990	645,7
0,1	0,026833	0,023725	-738,83	6,4404E-06	0,07484	849,1
0,2	0,035901	0,03714	-749,57	1,0737E-05	0,12476	738,4
0,5	0,054192	0,062099	-731,89	2,1678E-05	0,251900	579,7
0,8	0,028879	0,034981	-709,83	5,4154E-06	0,062927	1268,7
1	0,038086	0,067645	-760,76	7,9117E-06	0,091934	1337,6

Quadro 15 – Parâmetros eletroquímicos do aço carbono AISI 1020 após 48 horas de imersão em água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco

Concentração de proantocianidinas (g/L)	$\beta_{anódico}$ (V/dec)	$\beta_{catódico}$ (V/dec)	E_{corr} (mV)	J_{corr} (A/cm^2)	Taxa de corrosão (mm/ano)	Resistência de polarização (Ω)
0	0,054913	0,081908	-708,02	1,6628E-05	0,19322	858,6
0,1	0,051596	0,087011	-753,73	1,3707E-05	0,15927	1026,2
0,2	0,030722	0,025265	-747,46	1,0459E-05	0,12153	575,7
0,5	0,042518	0,050309	-739,54	1,6057E-05	0,186580	623,3
0,8	0,023040	0,018791	-651,12	2,1523E-06	0,02501	2088,4
1	0,033738	0,037098	-756,99	4,3508E-06	0,05056	1763,7

Quadro 16 – Parâmetros eletroquímicos do aço carbono AISI 1020 após 72 horas de imersão em água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco

Concentração de proantocianidinas (g/L)	$\beta_{anódico}$ (V/dec)	$\beta_{catódico}$ (V/dec)	E_{corr} (mV)	J_{corr} (A/cm^2)	Taxa de corrosão (mm/ano)	Resistência de polarização (Ω)
0	0,073932	0,10853	-712,06	3,1387E-05	0,36472	608,5
0,1	0,042612	0,048977	-736,91	1,3841E-05	0,16083	714,9
0,2	0,050043	0,1268	-710,62	9,2434E-06	0,10741	1685,9
0,5	0,032930	0,02456	-721,93	1,6603E-05	0,19293	368,1
0,8	0,028835	0,01902	-671,83	5,3131E-06	0,06174	936,8
1	0,024961	0,02737	-749,43	6,8776E-06	0,07992	824,4

A atividade das proantocianidinas como inibidor de corrosão ao longo das 72 horas de imersão pode ser analisada na Figura 30, onde são plotados os dados da eficiência do inibidor estimado pela Equação 3 com os dados da J_{corr}.

Logo após a imersão, independente da concentração de proantocianidinas, foi observado mais de 60% de eficiência na inibição da corrosão. Contudo, as análises eletroquímicas indicaram que após 3 horas de imersão não foi observado efeito de inibição dos processos corrosivos (Quadro 13 e Figura 30). Em casos em que há a aplicação de inibidores de corrosão de adsorção é comum essa variação até a formação e estabilização do filme protetor, tanto que após 24 horas a eficiência do inibidor se antevê acima dos 70% para as concentrações mais altas (0,8 e 1 g/L).

Não é possível estabelecer uma comparação direta entre os dados obtidos nesse estudo com os dados referentes na literatura, pois, como já mencionado, frequentemente os estudos de moléculas de origem vegetal como inibidor de corrosão são feitos em condições de ensaio ácidas e com tempo de imersão curto. Enquanto nesse estudo priorizamos as condições ideais de pH para sistemas de refrigeração, optando pelo pH neutro.

Entretanto, apesar do pH neutro reduzir a intensidade de interação entre as moléculas orgânicas e a superfície metálica, os dados referentes às proantocianidinas extraídas da fibra de coco conseguem se equipar ou, até mesmo, superar os resultados descritos pela literatura em condições ácidas e curtos tempos de imersão (MARTINEZ e STANGLIJAR, 2003; RAHIM *et al.*, 2007; TAN e KASSIM, 2011; TAN, KASSIM e OO, 2012; MUTHUKRISHNAN, JEYAPRABHA E PRAKASH, 2017; SAXENA, PRASAD e HALDHAR, 2018; SAXENA *et al.*, 2018).

Como, por exemplo, Martinez e Stanglijar (2003), Rahim *et al.* (2007) e Tan e Kassim (2011) que em seus estudos obtiveram percentuais de eficiência abaixo dos 70%. Entretanto, como esses estudos utilizaram tempos e imersão abaixo de 24 horas, é possível que, assim como observamos em relação às proantocianidinas extraídas da fibra de coco, não houve tempo hábil para a formação da película protetora.

No intuito de aumentar a eficiência de inibição é possível fazer modificações estruturais nas moléculas orgânicas, conforme descrito por Tan, Kassin e Oo (2012), que após a modificação de catequinas comerciais extraídas de diversas espécies vegetais, conseguiram aumentar a eficiência da inibição para 92%.

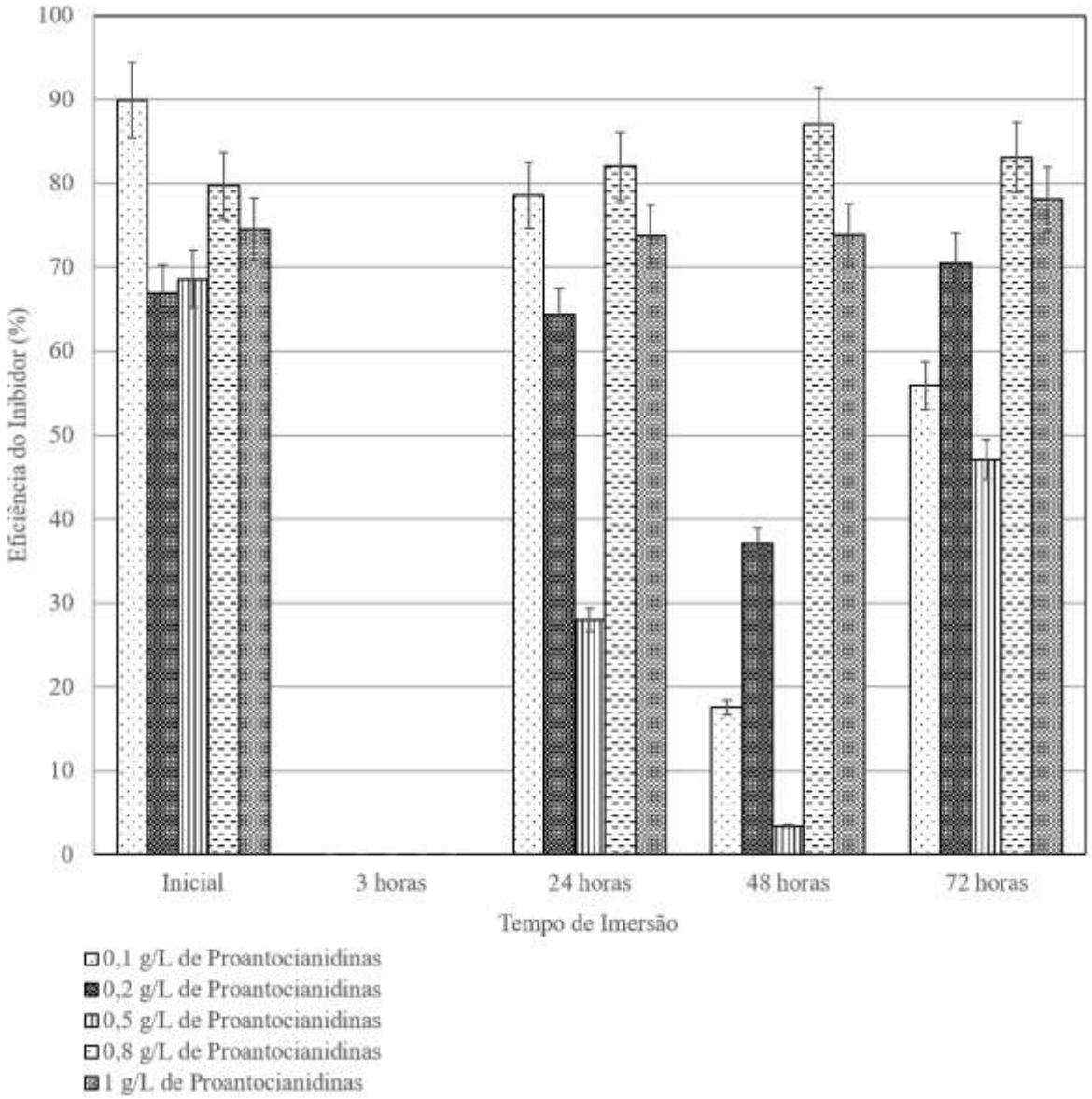


Figura 30 – Eficiência de diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco na inibição do aço carbono AISI 1020 ao longo de 72 horas de imersão.

Vale ainda ressaltar que a eficiência dos inibidores de corrosão é dependente da sua concentração, sendo que tanto o excesso, quanto a falta podem causar transtornos graves e aumentar expressivamente a velocidade dos processos de corrosão (SASTRI, 2011). Dessa maneira, é possível que estudos com baixos percentuais de proteção seja pelo uso da concentração inadequada (MARTINEZ e STANGLIJAR, 2003; RAHIM *et al.*, 2007; TAN e KASSIM, 2011).

Como pode ser observado na Figura 30, as concentrações inferiores a 0,8 g/L apresentaram resultados variáveis ao longo do tempo de imersão, possivelmente pela

concentração de moléculas insuficiente para manter a formação de um filme protetor. Esse comportamento pode ser justificado pelo mecanismo de ação de moléculas orgânicas na inibição da corrosão, que depende de interações químicas, físicas e elétricas entre as moléculas orgânica e a superfície metálica (MARTINEZ e STAGLIAR, 2003; SAXENA *et al.*, 2018).

Vale ressaltar que essa interação entre as moléculas orgânicas e a superfície metálica podem variar em função das condições ambientais. Afinal, dependendo das demais moléculas presentes no eletrólito a interação entre o inibidor de corrosão e a superfície metálica pode ser desfeita (VINUTHA e VENKATESHA, 2016).

Dessa forma, considerando que há a necessidade de um quantitativo de moléculas orgânicas necessário para a interação do inibidor com a superfície metálica para formar o filme protetor, e que no eletrólito usado nesse estudo contém íons cloreto, as concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco abaixo de 0,8 g/L não conseguiram formar um filme protetor ligado por interações químicas, físicas e elétricas à superfície metálica forte o suficiente para superar o ataque das espécies químicas corrosivas.

A análise da interação entre as proantocianidinas extraídas da fibra do coco e a superfície do aço carbono AISI 1020 pode ser feita pela técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS). Através da EIS foram gerados os diagramas de Bode, que indicam os fenômenos que ocorrem na superfície metálica e no seu entorno (PAJKOSSY e JURCZAKOWSKI, 2017).

Para a interpretação dos diagramas é importante ressaltar que a impedância é a relação entre a perturbação gerada por um potencial alternado (ΔE), através da aplicação de frequências, que produz em resposta uma corrente alternada (ΔI). Portanto, a impedância é inversamente proporcional ao efeito na corrente e, consequentemente quanto maior a impedância menor a susceptibilidade do metal à corrosão (SASTRI, 2011; FASMIN e SRINIVASAN, 2017).

O diagrama de Bode, além da susceptibilidade do metal à corrosão, permite conhecer a resistência do circuito elétrico formado na superfície metálica, relacionando as frequências aplicadas à impedância e aos ângulos de fase. Vale salientar que os ângulos de fase são definidos pela distância entre a variação do potencial e da corrente, sendo o ângulo máximo formado de 90º, nessa situação a impedância é máxima (capacitor ideal) e o sistema é menos suscetível à corrosão (GERENGI, 2018).

A seguir serão apresentados os resultados obtidos pela técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica no controle (sem adição de proantocianidinas) e nos testes (com diferentes concentrações de proantocianidinas) por 72 horas de imersão em solução sintética de

água de sistema de refrigeração. Contudo, é imprescindível relacionar esses dados aos parâmetros eletroquímicos descritos nos Quadros 12 a 16 para a adequada interpretação dos resultados.

A Figura 31 mostra os resultados das diferentes condições experimentais imediatamente após a imersão dos corpos de prova. Como pode ser observado, esse interim não foi suficiente para a promoção de fenômenos suficientes para distinguir de maneira importante as condições em que há a presença de proantocianidinas, uma vez apresentam perfis e valores semelhantes.

Os valores de impedância na frequência mais baixa (0,1 Hz) estão na faixa entre 800 e 1000 Ω, com exceção da condição em que houve adição de 0,1 g/L de proantocianidinas, na qual esse valor é superior a 1200 Ω. Quanto maior o valor de impedância, maior é o comportamento capacitivo do circuito elétrico (impedindo a passagem de corrente elétrica) e consequentemente menor tendência à corrosão. Essa informação é ratificada no Quadro 12, que mostra que na presença de 0,1 g/L de proantocianidinas é encontrada a menor taxa de corrosão e a maior resistência a polarização.

A comparação entre as curvas referentes aos ângulos de fase na ausência e na presença de diferentes concentrações de proantocianidinas (Figura 31) mostram que na falta do inibidor o pico da curva está na região de frequências mais baixas indicando que as reações características estejam ocorrendo mais próximas à superfície. Enquanto que os picos das curvas contendo proantocianidinas estão numa faixa de frequências mais alta, sugerindo que as reações características relacionadas à formação de filmes ocorrem com afastamento maior da superfície metálica. Possivelmente, isso está relacionado às disputas de interação com a superfície metálica entre o inibidor e os demais componentes do eletrólito.

Porém, os resultados obtidos pela técnica de impedância aparentemente destoam daqueles observados no Quadro 12, em que se observa menores taxas de corrosão na presença de proantocianidinas. Tal observação pode ser pela ação das proantocianidinas interferindo nas reações químicas próximas à superfície metálica relacionadas ao processo de corrosão (anódicas e/ou catódicas), mas ainda não houve tempo para a formação de um filme na superfície do metal.

Após 3 horas de imersão (Figura 32) as curvas apresentaram perfis distintos nas diferentes condições experimentais com redução dos módulos de impedância e ângulos de fase. Esses resultados ratificam a maior susceptibilidade do metal à corrosão, assim como o aumento da taxa de corrosão na presença de proantocianidinas em solução (Quadro 13). Os resultados referentes a condição contendo 0,8 g/L de proantocianidinas se destacaram pelo menor módulo de impedância e ângulo de fase, indicando que nessa condição a presença do inibidor confere

ao sistema um comportamento mais resistivo e, consequentemente, o metal é mais suscetível a corrosão.

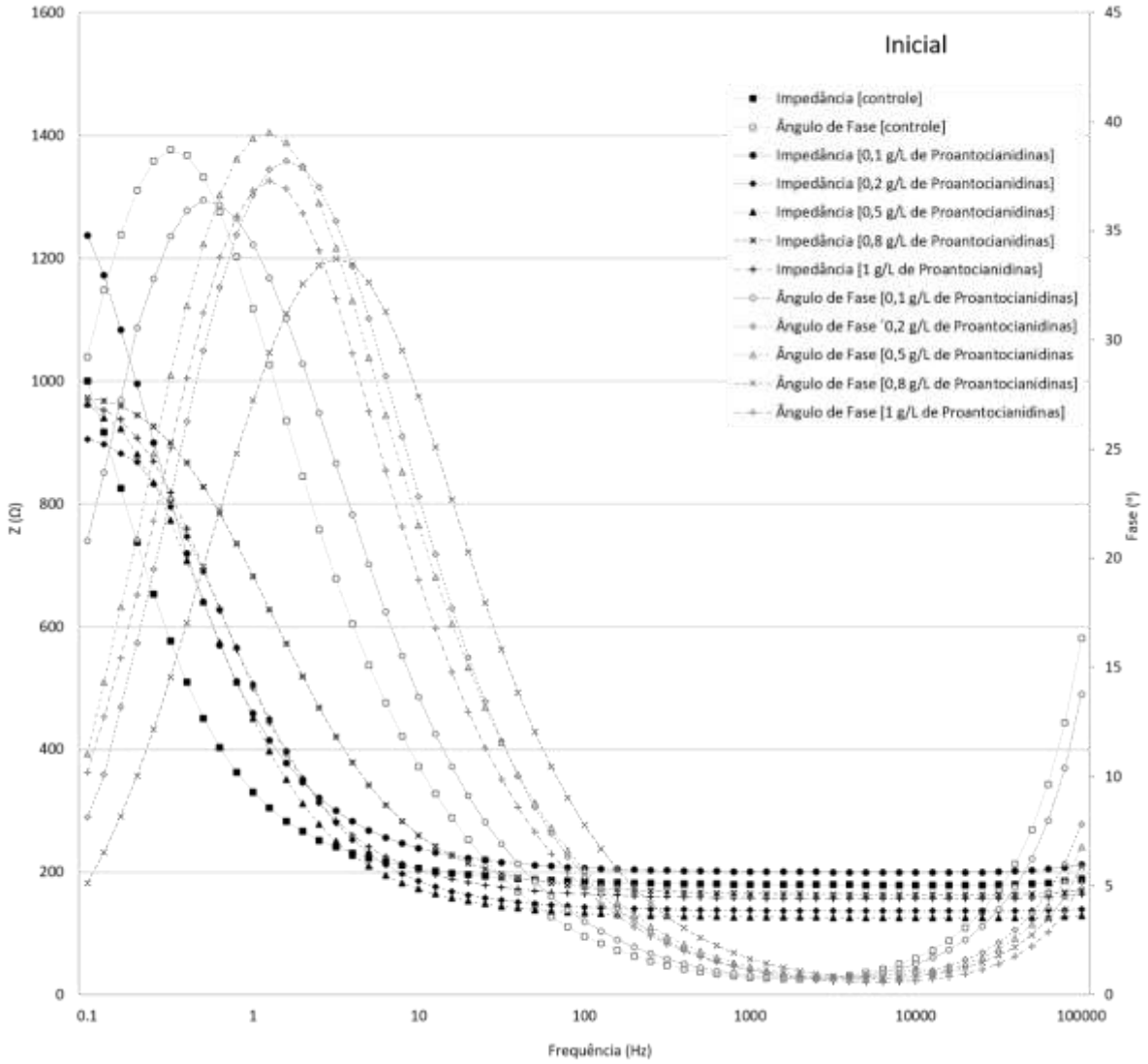


Figura 31 – Impedância eletroquímica representada pelo diagrama de Bode para aço carbono AISI 1020 imediatamente após imersão em solução de água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco.

De modo geral, após 3 horas de imersão a presença das proantocianidinas em solução aumentaram a susceptibilidade do metal a corrosão nas primeiras horas de imersão (Quadro 13). Esse comportamento é considerado normal, pois até a formação total do filme, a adsorção das moléculas no metal promove variação de potencial elétrico e, consequentemente, o estabelecimento de áreas anódicas e catódicas que intensificam as reações associadas à corrosão (SASTRI, 2011).

Portanto, os módulos de impedância e ângulos de fase mais baixos observados no teste com adição de 0,8 g/L de proantocianidinas devem estar relacionados com a adsorção dessas moléculas no metal, mas ainda não houve tempo para a formação do filme protetor que foi observado após 24 hora de imersão (Quadro 14 e Figura 33).

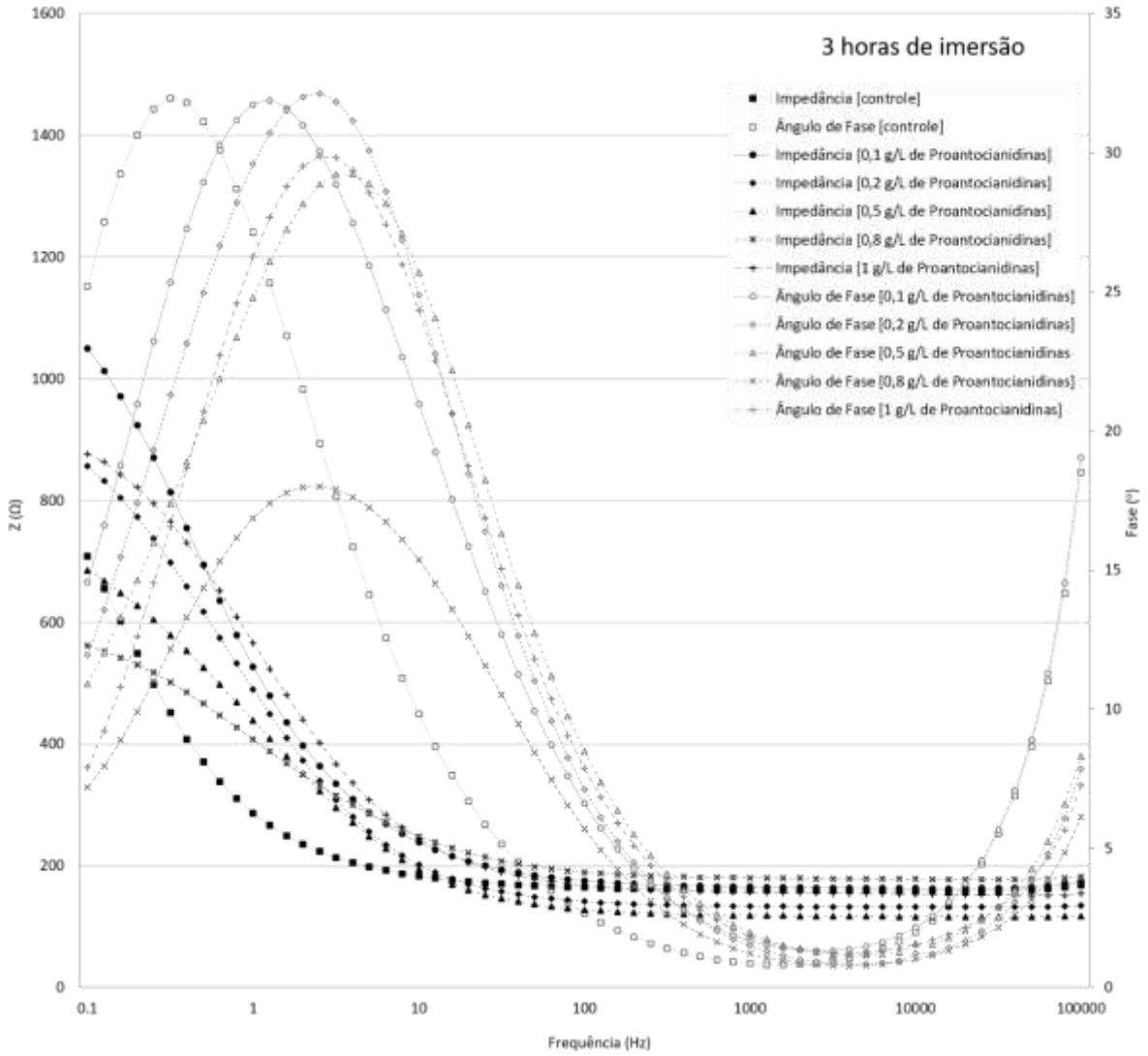


Figura 32 – Impedância eletroquímica representada pelo diagrama de Bode para aço carbono AISI 1020 após 3 horas de imersão em solução de água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco.

Após 24 horas de imersão percebe-se que as concentrações de 0,8 e 1 g/L de proantocianidinas em solução mostram comportamento inibitivo melhor. No Quadro 14 esses testes apresentam baixas taxas de corrosão e alta resistência à polarização, que corroboram as observações feitas na Figura 33. Na qual as curvas referentes aos ensaios contendo 0,8 e 1 g/L de proantocianidinas em solução são observados os maiores módulos de impedância e ângulos

de fase. Nas condições com concentrações inferiores a 0,8 g/L de proantocianidinas os resultados apresentam o mesmo perfil do controle sem adição de inibidor.

A comparação entre as curvas referentes aos ensaios com maior concentração de inibidor indica que a condição contendo 0,8 g/L de proantocianidinas apresenta módulos de impedância e ângulo de fase menores que a condição contendo 1 g/L de proantocianidinas, podendo indicar que o filme formado nessa concentração de inibidor seria menos "delgado" em função da localização do pico de ângulo de fase.

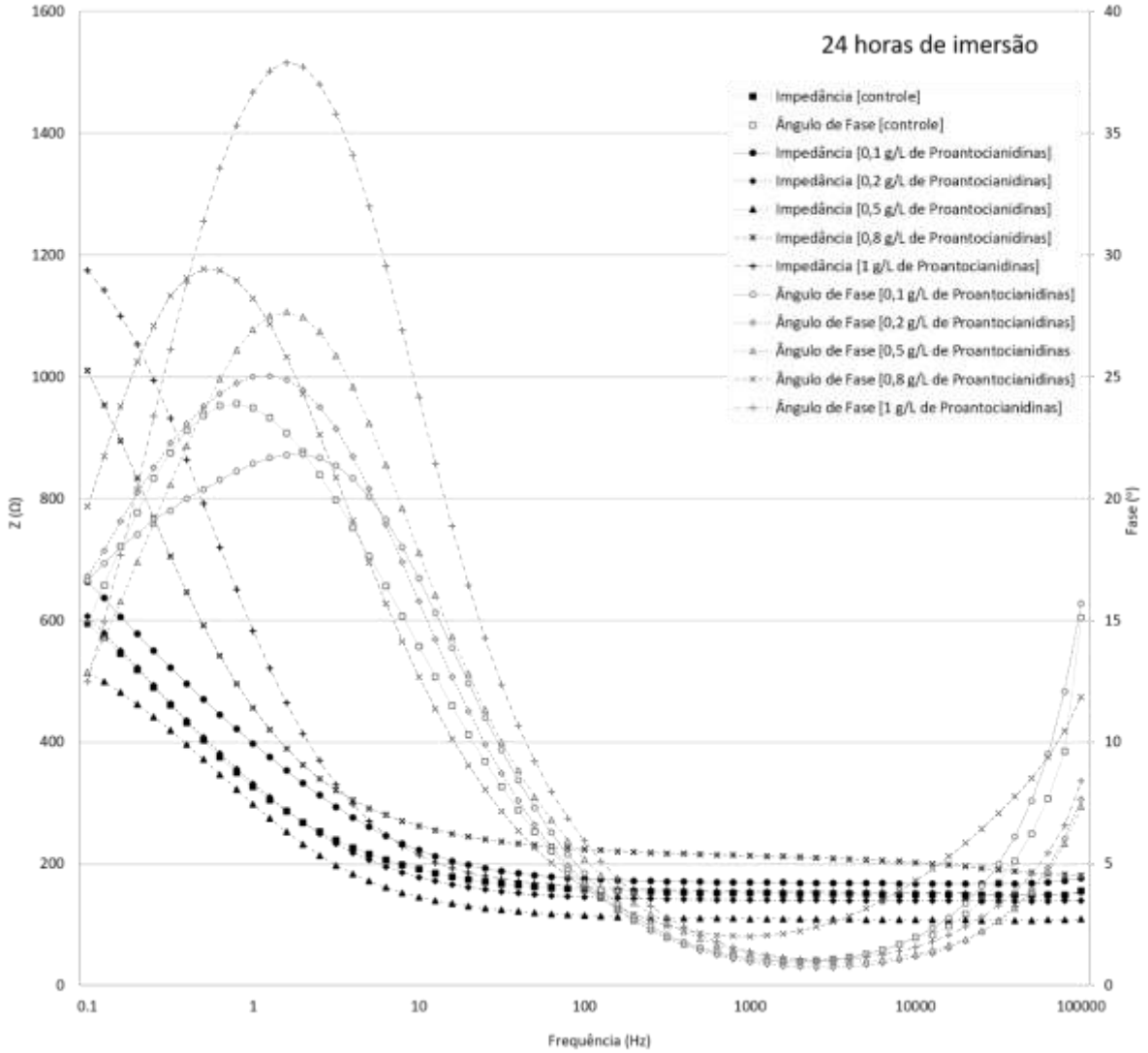


Figura 33 – Impedância eletroquímica representada pelo diagrama de Bode para aço carbono AISI 1020 após 24 horas de imersão em solução de água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes

Em contrapartida, o pico da curva referente aos ângulos de fase da condição contendo 1 g/L de proantocianidinas após 24 horas de imersão é observado em valor de freqüência mais

alto que o observado na condição contendo 0,8 g/L de proantocianidinas (Figura 33). Além disso, o ângulo de fase referente mostra-se maior, o que pode indicar a filmagem da superfície por uma película ligeiramente mais delgada e menos porosa. De fato, os dados eletroquímicos de resistência a polarização (Quadro 14) corroboram a informação da formação de um filme mais espesso na condição de 1g/L de proantocianidinas uma vez que nessa condição foi observado o valor mais alto da resistência de polarização.

Após 48 horas de imersão (Figura 34) os dados a condição contendo 0,8 g/L de proantocianidinas aumentou seu valor de impedância, o que corrobora o aumento da resistência a polarização observada nessa condição no Quadro 15. Na Figura 34 ainda é possível observar que o pico da curva referente aos ângulos de fase se encontra na menor faixa de frequência, indicando a proximidade do filme formado pelo inibidor à superfície metálica.

E, considerando os resultados dos parâmetros eletroquímicos após 48 horas de imersão (Quadro 15), pode-se inferir que o filme formado na superfície metálica no ensaio contendo 0,8 g/L é eficiente na proteção do aço carbono AISI 1020, já que nessa condição foi observado os menores valores dos coeficientes anódico e catódico e a menor taxa de corrosão.

Muito embora os resultados contendo 1 g/L de proantocianidinas em solução apresentem resultados eficientes na inibição da corrosão, a condição contendo de 0,8 g/L de proantocianidinas extraídas da fibra do coco, após 48 horas de imersão, poderia ser considerada para aplicação na inibição à corrosão do aço carbono AISI 1020 em pH neutro (7±0,2) com a formação de um filme com eficiência de proteção superior a 80% (Figura 30).

Na Figura 34 é possível observar que no teste contendo 0,1 g/L de proantocianidinas o módulo de impedância é próximo daquele observado na condição mais eficiente (0,8 g /L de proantocianidinas). Ao longo das 48 horas de imersão, o teste contendo a menor concentração de inibidor testada (0,1 g/L de proantocianidinas) teve sua eficiência de inibição variável em função do tempo de imersão.

Essa variação pode estar relacionada ao fato de não haver a concentração necessária para a formação de um filme estável com capacidade para proteger a superfície metálica, uma vez que mesmo com altos valores de resistência a polarização, nessa condição a taxa de corrosão foi próxima aquela observada na ausência de proantocianidinas (Quadro 15). Nas demais condições o perfil das curvas foi similar na presença e na ausência do inibidor.

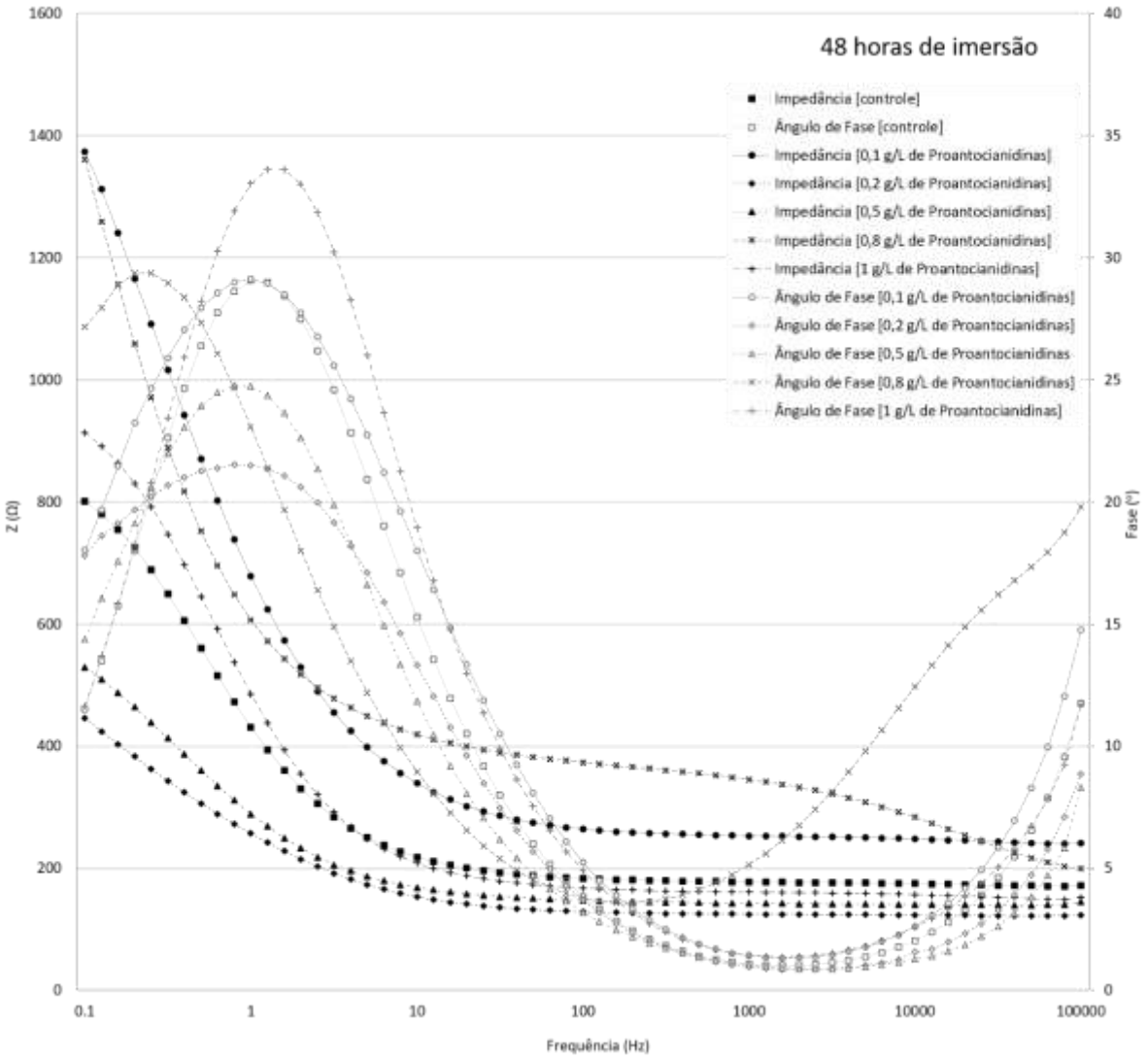


Figura 34 – Impedância eletroquímica representada pelo diagrama de Bode para aço carbono AISI 1020 após 48 horas de imersão em solução de água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco.

As curvas obtidas depois de 72 horas de imersão mostram que a condição contendo 0,8 g/L de proantocianidinas reduziu sua atividade como inibidor de corrosão (Figura 35), como também pôde ser observado no Quadro 16. Entretanto, mesmo com essa redução foi possível observar percentual de inibição superior a 80% (Figura 30).

A análise da Figura 35 mostra a condição contendo 1 g/L de proantocianidinas como a mais eficiente, contudo os parâmetros eletroquímicos (Quadro 16) indicam que o ensaio contendo 0,8 g/L continua apresentando-se como uma condição bem eficiente.

Os resultados da impedância eletroquímica gerados para diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco se assemelham a dados de outros estudos em que

depois do filme formado há um aumento dos módulos de impedância e ângulos de fase (TAN, KASSIM e OO, 2012; SAXENA, PRASAD e HALDHAR, 2018; SAXENA *et al.*, 2018).

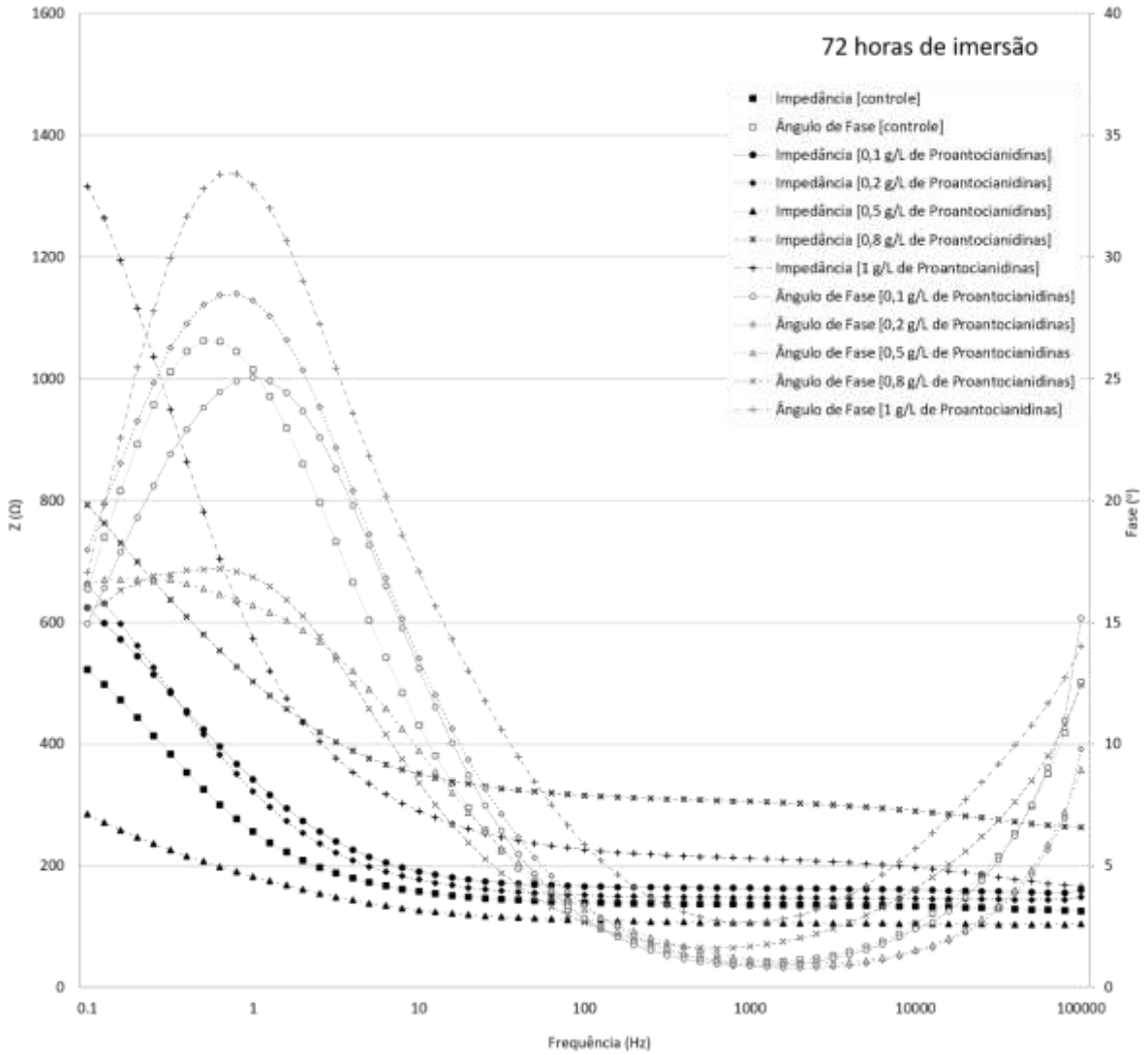


Figura 35 – Impedância eletroquímica representada pelo diagrama de Bode para aço carbono AISI 1020 após 72 horas de imersão em solução de água sintética de sistema de refrigeração contendo diferentes concentrações de proantocianidinas extraídas da fibra do coco.

A comparação dos dados obtidos nesse estudo com os relatados na literatura corrobora a hipótese de que a formação de uma película protetora na superfície do corpo de prova confere ao circuito elétrico um caráter mais capacitivo. Isso ocorre porque o filme protetor funciona restringindo a passagem de corrente, levando à desaceleração das reações de corrosão.

Tal observação pode ser ratificada pela observação dos coeficientes anódicos e catódicos (apresentados nos Quadros 12, 13, 14, 15 e 16) que são menores que os observados no controle

nas condições de ensaio em que se observa os maiores percentuais de eficiência das proantocianidinas na inibição da corrosão (Figura 30).

Muito embora as proantocianidinas apresentem eficiência de inibição superior a 70% em concentrações acima de 0,8 g/L após 24 horas de imersão, é necessária a compreensão da influência nas variações das condições ambientais como pH e temperatura na interação entre as proantocianidinas extraídas da fibra do coco e a superfície do aço carbono AISI 1020.

5.6.1 **Avaliação da influência da concentração de proantocianidinas, pH e temperatura na inibição da corrosão em aço carbono AISI 1020**

Em sistemas de refrigeração o fluido é submetido a grande variação de temperatura, que consequentemente interfere nos valores de pH. Assim, os compostos utilizados no tratamento desses sistemas devem ser eficientes e se manterem estáveis nas diferentes condições ambientais do sistema (TROVATI, 2004; CHEIS, 2014).

Deste modo, pesquisas sobre novas moléculas para esse tipo de aplicação devem considerar sua estabilidade nas faixas de condições ambientais às quais o processo é submetido. Segundo dados da literatura, em condições normais, a água do sistema de resfriamento apresenta pH variando de 6 a 8, enquanto a temperatura varia desde a temperatura ambiente até temperaturas próximas a 100ºC (CHEIS, 2014). Porém, por uma questão de viabilidade operacional, a temperatura máxima estudada foi de 80 ºC.

Conhecer o efeito do pH, temperatura e da concentração de proantocianidinas utilizou-se uma matriz de planejamento fatorial completo utilizando como variáveis de resposta a taxa de corrosão, a J_{corr} e eficiência de inibição da corrosão (estimada pela aplicação da Equação 3). Os resultados dessas variáveis de resposta após 24 horas de imersão são apresentados na Tabela 5.

O ponto central foi feito em triplicata para o estabelecimento do erro experimental, que foi extrapolado nos demais resultados apresentados para as demais condições delineadas no planejamento fatorial.

A análise dos resultados obtidos nos ensaios controle indicam que a condição com pH mais baixo (6,0) e temperatura ambiente (30ºC) a menos corrosiva, visto que apresenta os menores valores de taxa de corrosão e densidade de corrente de corrosão. Por outro lado, o aumento da temperatura (80 ºC) na mesma condição de pH provocou a condição de ensaio mais

corrosiva para o aço carbono AISI 1020 (Tabela 5), sugerindo que a temperatura seja um fator importante do desenvolvimento da corrosão.

Tabela 5 – Respostas da matriz do planejamento fatorial completo 2^3 para avaliação da interferência do pH, temperatura e concentração de proantocianidinas na inibição do aço carbono AISI 1020 em 24 horas de imersão em solução sintética de sistema de refrigeração

Ensaio	pH	Temperatura (ºC)	Concentração (g/L)	[1]Taxa de Corrosão (mm/ano)	[2]Jcorr (A/cm^2)	[3]Eficiência de Inibição (%)
1	6	30	0,1	0,009971	8,58E-07	89,7
2	8	30	0,1	0008078	6,95E-07	58,7
3	6	80	0,1	0,21565	1,86E-05	44,1
4	8	80	0,1	0,12443	1,07E-05	64,2
5	6	30	1	0,027539	2,37E-06	71,6
6	8	30	1	0.000052	4,43E-09	99,7
7	6	80	1	0,045602	3,92E-06	88,2
8	8	80	1	0,095789	8,24E-06	72,4
Ponto Central	7	55	0,5	0,04513	3,7E-06	89,2
Controle 1	6	30	-	0,096952	8,34E-06	-
Controle 2	6	80	-	0,38575	3,32E-05	-
Controle 3	8	30	-	0,19542	1,68E-06	-
Controle 4	8	80	-	0,34749	2,99E-05	-
Controle 5	7	55	-	0,28987	3,43E-05	-

[1]Desvio padrão = 0,01; [2]Desvio padrão = 9,1E-07; [3]Desvio padrão = 2,7

Os resultados na presença de diferentes concentrações de proantocianidinas indicam que a eficiência dessas moléculas como inibidor de corrosão ocorre em concentrações superiores a 0,5 g/L. Uma vez que nessas condições, independente dos valores de pH e temperatura a eficiência se manteve acima dos 70%. Na concentração de 0,1 g/L de proantocianidinas apenas a condição com os teores mais baixos de pH e temperatura apresentou um percentual de inibição superior a 80%. Porém, considerando-se um sistema de refrigeração industrial essa não é a condição mais comum.

Para a melhor visualização, os dados da eficiência do inibidor foram plotados na Figura 36, onde fica mais evidente a influência da concentração de proantocianidinas extraídas da fibra do coco na inibição da corrosão do metal. Porém, em relação às condições de pH e temperatura não foi possível definir um padrão a partir dos resultados obtidos como é notório em relação a concentração das proantocianidinas.

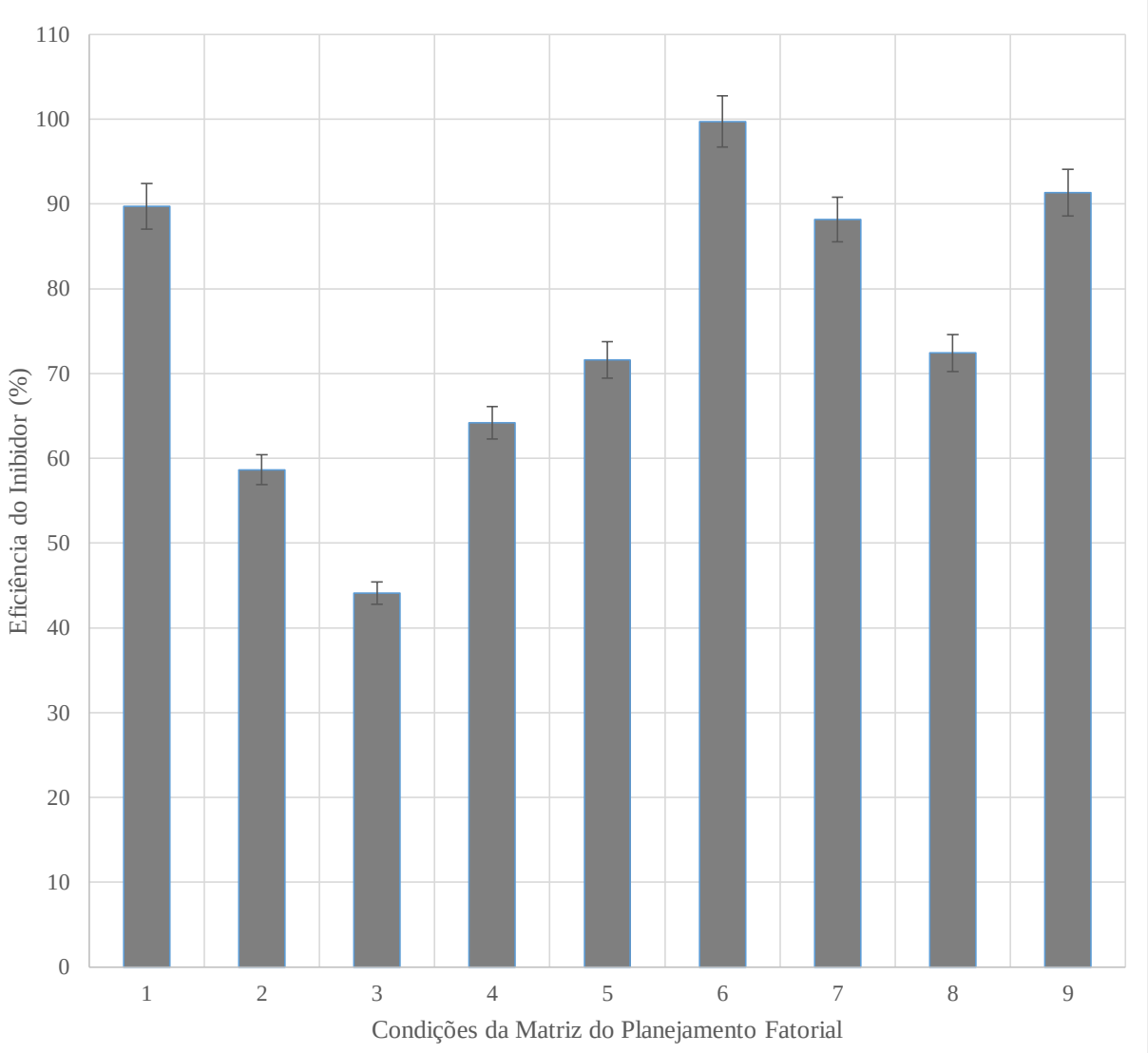


Figura 36 – Eficiência de inibição das proantocianidinas extraídas da fibra do coco nas condições delineadas na matriz do planejamento fatorial para aço carbono AISI 1020 após 24 horas de imersão.

No intuito de analisar a interferência das variáveis controladas (pH, temperatura e concentração de inibidor) no processo de corrosão do aço carbono em solução sintética de água de sistema de refrigeração, as variáveis de resposta foram submetidas à análise estatística. Dessa maneira é possível inferir a importância desses parâmetros no processo de corrosão.

Nas Figuras 39 e 40 são apresentados os diagramas de Pareto utilizando os dados da taxa de corrosão e eficiência do inibidor, respectivamente. Para as duas variáveis de resposta a temperatura e a concentração de inibidor apresentaram influência na corrosão sendo que o aumento da temperatura estimula o processo corrosivo, enquanto a concentração de proantocianidinas retarda as reações de corrosão.

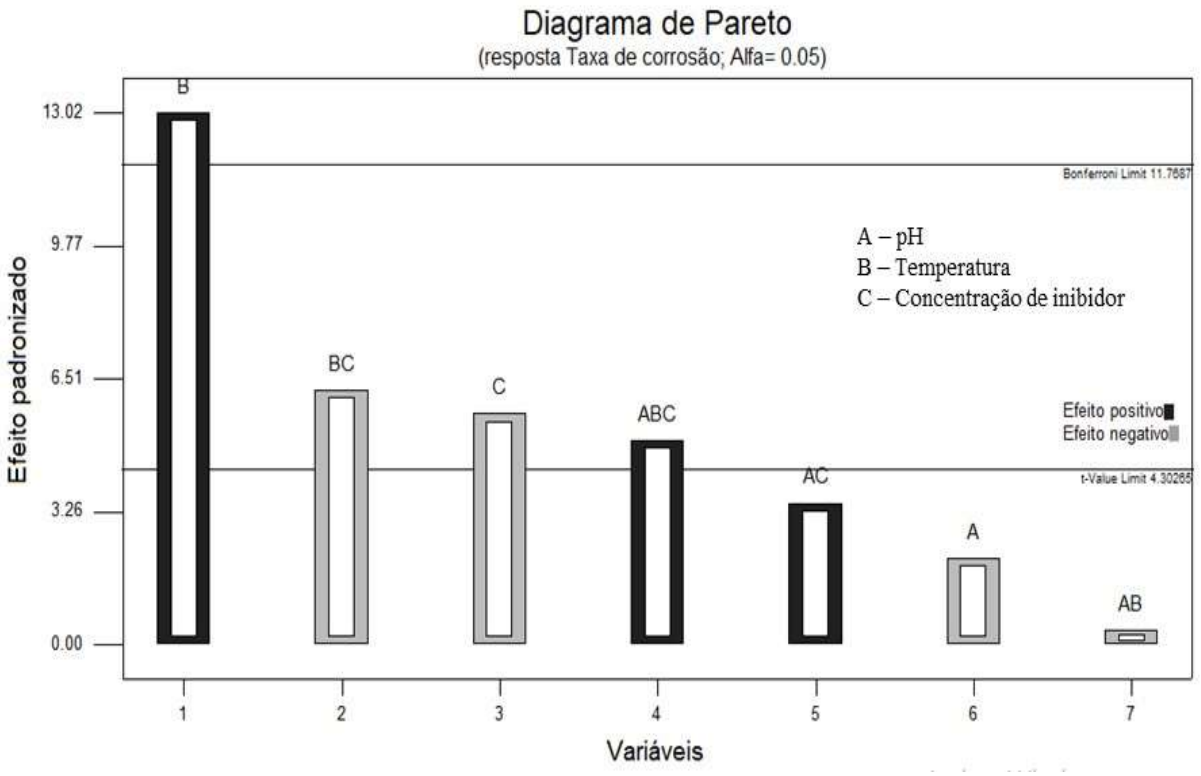


Figura 37 – Diagrama de Pareto considerando a taxa de corrosão como varável de resposta.

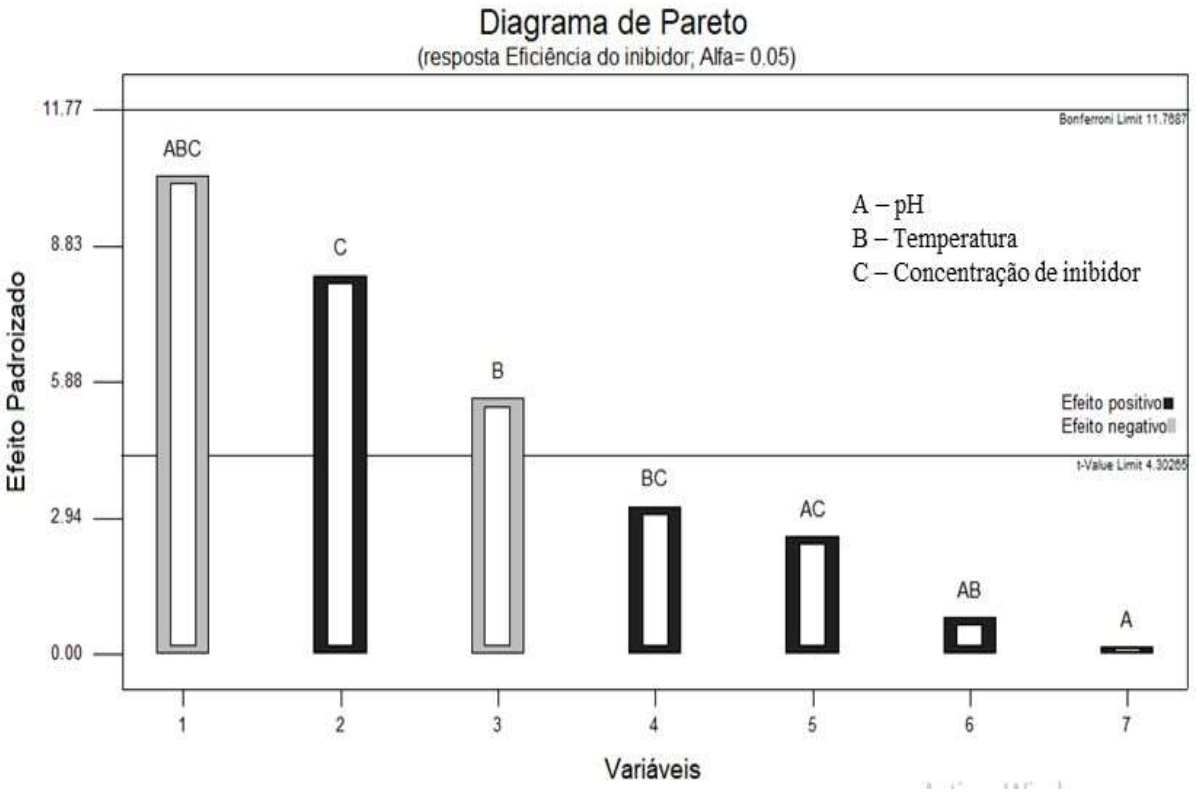


Figura 38 – Diagrama de Pareto considerando a eficiência do inibidor como varável de resposta.

A confirmação de que a temperatura é um fator determinante no processo de corrosão e que mesmo em temperaturas mais altas as proantocianidinas extraídas da fibra do coco foram capazes de apresentar percentual de inibição acima de 70%. Essa informação é corroborada por Tan e Kassim (2011), que mostraram redução da eficiência da inibição com o aumento da temperatura.

A interação de todas as variáveis de controle se mostrou significativa tanto em relação à taxa de corrosão quanto à eficiência do inibidor. Sendo que a interação entre essas três variáveis induz o processo de corrosão e reduz a eficiência do inibidor. O pH não apresentou interferência significativa na análise de nenhuma das variáveis de resposta. Tal fato se deve à estabilidade dessas moléculas, mesmo em altas temperaturas.

7 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com esse estudo permitiram analisar a atividade das proantocianidinas extraídas da fibra da casca do coco como biocida e inibidor de corrosão. A partir desses resultados conclui-se que:

- Foi possível quantificar as proantocianidinas extraídas da fibra do coco em solução a partir de uma curva-padrão construída com um extrato comercial liofilizado de proantocianidinas oriundas de *Schinopsis lorentzii*;
- As proantocianidinas extraídas da fibra do coco não apresentam toxicidade ao ambiente pela avaliação da germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.), no qual não foi observada variação significativa entre o número de sementes germinadas na presença e na ausência de diferentes concentrações de proantocianidinas;
- A avaliação da ecotoxicidade em relação ao alongamento das raízes de alface (*Lactuca sativa* L.) corroboram a ausência de toxicidade das proantocianidinas, uma vez que nas concentrações entre 0,1 e 1 g/L de proantocianidinas foi observado um estímulo de mais de 30% no tamanho das raízes;
- A partir da amostra de água de sistema de refrigeração foi possível o isolamento das espécies e grupos microbianos de interesse na biocorrosão: *Pseudomonas aeruginosa* (bactéria heterotrófica), *Shewanella* sp. (ferrobactéria) e o consórcio de BRS;
- A concentração mínima inibitória das proantocianidinas extraídas da fibra de coco foi de 2 g/L para *Pseudomonas aeruginosa* e *Shewanella* sp. e de 3 g/L para o consórcio de BRS. Esses resultados estão de acordo com os relatos da literatura e devido às altas concentrações a avaliação das proantocianidinas na biocorrosão não foi realizada;
- A avaliação das proantocianidinas extraídas da fibra do coco como inibidores de corrosão para aço carbono AISI 1020 em água sintética de sistema de refrigeração e pH neutro indicou que as concentrações de 0,8 e 1 g/L são promissoras, com eficiência de inibição superior a 70% mesmo após 72 horas de imersão;
- Os resultados das curvas de polarização mostram que a presença das proantocianidinas em solução reduzem a corrente de corrosão, sugerindo um mecanismo de inibição catódico. Contudo, assim como descreve a literatura as

proantocianidinas extraídas da fibra do coco formam um filme na superfície metálica;

- A análise das curvas de impedância e ângulos de fase obtidas pela técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica mostram que as concentrações de 0,8 e 1 g/L de proantocianidinas extraídas da fibra do coco foram um filme protetor na superfície metálica a partir de 24 horas de imersão;
- As concentrações inferiores a 0,8 g/L de proantocianidinas em solução testadas apresentaram resultados variáveis em relação a sua eficiência na inibição da corrosão. Possivelmente, nessas concentrações não havia um número de moléculas suficiente para vencer a competição do eletrólito e formação de um filme estável e protetor na superfície metálica;
- As informações obtidas com as técnicas eletroquímicas mostram que as proantocianidinas extraídas da fibra de coco são inibidores de corrosão em potencial. Pois, a eficiência de inibição em pH neutro foi similar ou superior aos dados da literatura em pH ácido, condição em que a maior parte dos estudos de inibidores de corrosão com produtos naturais é feita, e, deixa a superfície metálica mais suscetível à adsorção de moléculas orgânicas;
- A variação da temperatura, pH e concentração de proantocianidinas nas condições experimentais indicam que a temperatura e a concentração de inibidor são fatores significativos na inibição da corrosão sob aço carbono AISI 1020, enquanto que o pH só interfere no processo quando associado aos demais fatores;
- A análise estatística mostrou que a concentração de proantocianidinas extraídas da fibra do coco em solução aumenta a eficiência do inibidor, enquanto que o aumento da temperatura reduz a atividade. Entretanto, em todas as condições contendo 1 g/L de proantocianidinas em solução a eficiência de inibição foi superior a 70%.

8 PERSPECTIVAS FUTURAS

Estudos de prospecção de biomoléculas extraídas de materiais vegetais são promissores e podem ser aplicados em diferentes setores industriais. Os compostos fenólicos são descritos pela sua ação biocida, antioxidante e inseticida, sendo alvo de diversos estudos com resultados promissores para aplicação em larga escala.

As proantocianidinas extraídas da fibra da casca do coco verde apresentaram resultados promissores em relação à sua ação na inibição do aço carbono imerso em solução contendo cloreto, sulfato e carbonato de cálcio. Porém, seria interessante estudar se a reposição das concentrações de proantocianidinas em solução é eficiente para manter o filme protetor estável, reduzindo a taxa de corrosão. Ou ainda a avaliação da sua atividade para outras ligas metálicas, outros meios corrosivos ou, também, em sistemas dinâmicos com diferentes vazões de fluido.

Além disso, ainda seria interessante a confirmação de como ocorre a interação entre essas moléculas orgânicas e a superfície metálica. Sendo, inclusive, possível propor modificações na estrutura química dessas moléculas de modo que intensifique as interações químicas, físicas e elétricas, aumentando a estabilidade do filme protetor formado.

Muito embora as proantocianidinas extraídas da fibra do coco tenham apresentado valores de CMI superiores a 2 g/L para as espécies de *Pseudomonas aeruginosa* e *Shewanella* sp. seria interessante compreender o efeito dessas moléculas sobre o biofilme, tanto no processo de formação quanto sobre biofilmes já formados.

São grandes as possibilidades a respeito do tema que podem ser aproveitados em trabalhos futuros.

REFERÊNCIAS

ABDOLAHI, A; HAMZAH, E; IBRAHIM, Z; HASHIM, S. Microbially influenced corrosion of steels by Pseudomonas aeruginosa. **Corrosion Reviews**, 32: 129-141. 2014.

ABRACO, Associação Brasileira de Corrosão. Palestra: A nova ABRACO. **Portal ABRACO**. Disponível em: http://www.abraco.org.br/NAbracoP/slide0.htm. Acessado em: 15/06/2015.

ADÁMEZ, JD; SANINO, EG; SÁNCHEZ, EV; GONZÁLEZ-GOMES, D. In vitro estimation of the antibacterial activity and antioxidant capacity of aqueous extracts from grape-seeds (*Vitis vinifera* L.) **Food Control**, 24: 136-141, 2012.

AGWA, OK; IYALLA, D; ABU, GO. Inhibition of Bio corrosion of steel coupon by sulphate reducing bacteria and Iron oxidizing bacteria using Aloe Vera (Aloe barbadensis) extracts. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, 21(5): 833-838, 2017.

ALLWRIGHT, H; ENSHAEI, H. Investigation of the Impact of Marine Algae on the Corrosion of Mild Steel. **Journal of Basic and Applied Scientific Research**, 6(3): 28-37, 2016.

AL-WABEL, MI; RAFIQUE, MI; AHMAD, M; AHMAD, M; HUSSAIN, A; USMAN, ARA. Pyrolic and hydrothermal carbonization of date palm leaflets: characteristics and ecotoxicological effects on seed germination of lettuce. **Saudi Journal of Biological Sciences**, *article in press*, 2018.

ALTSCHUL, SF; GISH, W; MILLER, W; MYERS, EW; LIPMAN, D. Basic Local Alignment Search Tool. **Journal of Molecular Biology**, 215: 403-410, 1990.

ARAÚJO, LCA. Avaliação da corrosão induzida microbiologicamente em aço carbono AISI 1020 revestido com tinta pigmentada com óxido de nióbio. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Escola de Química – EQ. 127 p. **2011**.

ARAÚJO, L; CARVALHO, L; REZNIK, LY; LUTTERBACH, MTS; SÉRVULO, EFC. Efeito de biocidas na corrosão induzida microbiologicamente do aço duplex em água de produção de petróleo. **Corrosão e Proteção de Materiais**, 32(4): 108-114, 2013.

ARAÚJO, LCA. Avaliação da Eficácia de Biocidas Industriais na Prevenção ou Controle da Corrosão Induzida Microbiologicamente em Sistemas com Água Hipersalina. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Escola de Química – EQ. 163 p. **2015**.

ASHRAF, MA; ULLAH, S; AHMAD, I; QURESHI, AK; BALKHAIR, KS; ABDUR, RM. Green biocides, a promising technology: current and future applications to industry and industrial processes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 94(3):388-403, 2013.

ARULIAH, R; TING, YP. Characterization of corrosive bacterial consortia isolated from water in a cooling tower. **International Scholary Research Notices in Corrosion**, 14: 1-11. 2014. ID: 803219.

BARTON, LL. Biotechnology Handbooks: Suphate-Reducing Bacteria. Springer Science + Business Media, LLC, 1ª ed. 8v. 347 p. **1995**.

BARTON, LL; FAUQUE, GD. Biochemistry, Physiology and Biotechnology of Sulfate-Reducing Bacteria. **Advances in Applied Microbiology**, 68: 41-98. 2009.

BARBEHENN, RV; CONSTABEL, CP. Tannins in plant-herbivore interactions. **Phytochemistry**, 72: 1551-1565, 2011.

BECKER, R; QUEIROZ, TN; SANTOS, F; PEREIRA, MCT; BOHRER, R; DULLIUS, J; VILARES, M; MACHADO, G. Productivity potential and Coconut waste quality for biorefining. **Agronomy Science and Biotechnology**, 2(1): 11-20, 2016.

BEECH, IB; GAYLARDE, CC. Recent advances in the study of biocorrosion – An overview. **Revista de Microbiologia**, 30: 177-190. 1999.

BEECHER, GR. Proanthocyanidins: Biological Activities Associated with Human Health. **Pharmaceutical Biology**, 42: 2-20, 2004.

BELLINO, A; LOFRANO, G; CAROTENUTO, M; LIBRLATO, G; BALDATONI, D. Antibiotic effects on seed germination and root development of tomato (*Solanum lycopersium* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 148: 135-141, 2018.

BHAGWAT, S; HAYTOWITZ, D. USDA's Database for the Proanthocyanidin Content of Selected Foods. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Service. **2015**.

BOOTH, H. A study of the effect of tannin on the growth of sulphate-reducing bacteria. **Journal of Applied Bacteriology**, 23(1): 125-129, 1960.

BOOTH, GH; MERCER, SJ. The Effect of Tannins on the Morphology and Hydrogenase Activity of Sulphate Reducing Bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, 27(3): 408-412, 1964.

BOUR, A; MOUCHET, F; SILVESTRE, J; GAUTHIERM L; PINELLI, E. Environmentally relevant approaches to assess nanoparticles ecotoxicity: A review. **Journal of Hazardous Materials**, 283: 764-777, 2015.

BOUSFIELD, G; MORIN, S; JACQUET, N; RICHEL, A. Extraction and refinement of agricultural plant fibers for composites manufacturing. **Comptes Rendus Chimie**, *article in press*, 2018.

BRASIL, FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. Portaria de consolidação nº 5: Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Brasília, 444 p., **2017**. Acessado em 07/01/2018. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0005_03_10_2017.html.

BRIGIDA, ALS; ROSA, MF. Determinação do Teor de Taninos na Casca de Coco Verde (Cocos nucifera). **Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, 47: 25-27, 2003.

CALLISTER, WD; RETHWISCH, DG. Ciência e engenharia de materiais – Uma introdução. Grupo Gen, 9ª ed. **2016**.

CARPENTER, JL; CARUSO, F; TATA, A; VORSAC, N; NETO, CC. Variation in proanthocyanidin content and composition among commonly grown North American cranberry cultivars (Vaccinium macrocarpon). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 94(13): 2738-2745, 2014.

CARVALHO, LA; ANDRADE, AR; BUENO, PR. Espectroscopia de impedância eletroquímica aplicada aos estudos das reações heterogêneas em anodos dimensionalmente estáveis. **Química Nova**, 29(4): 796-804, 2006.

CARVALHO, RS; CAROLLO, CA; MAGALHÃES, JC; PALUMBO, JMC; BOARETTO, AG; SÁ, CN; FERRAZ, AC; LIMA, WG; SIQUEIRA, JM; FERREIRA, JMS. Antibacterial and antifungal activities of phenolic compound-enriched ethyl acetate fraction from *Cochlospermum regium* (mart. Et. Schr.) Pilger roots: Mechanisms of action and synergism with tannin and gallic acid. **South African Journal of Botany**, 114: 181-187, 2018.

CHAI, WM; LIN, MZ; WANG, YX; XU, KL; HUANG, WY; PAN, DD; ZOU, ZR; PENG, YY. Inhibition of tyrosinase by cherimoya pericarp proanthocyanidins: Structural characterization, inhibitory activity and mechanism. **Food Research International**, 100: 731-739, 2017.

CHAI, WM;OU-YANG, C; HUANG, Q; LIN, MZ; WANG, YX; XU, KL; HUANG, WY; PANG, DD. Antityrosinase and antioxidant properties of mung bean seed proanthocyanidins: Novel insights into the inhibitory mechanism. **Food Chemistry**, 260: 27-36, 2018.

CHEIS, D. A importância do tratamento de água de caldeiras. **Revista Técnica do Tratamento de Águas e Efluentes**, 22: 15-18, 2014.

CHORMEI, DS; BAKIRDERE, S; TURAN, NB; ENGIN, GO. Fundamentals of Quorum Sensing, Analytical Methods and Applications in Membrane Bioreactors. Elsevier, 1ª ed., vol. 81, 308 p., **2018**.

CINTRA, FLD; FONTES, HR; PASSOS, EE; FERREIRA, JMS. Fundamentos tecnológicos para a revitalização das áreas cultivadas com coqueiro gigante no nordeste do Brasil. EMBRAPA Tabuleiros Costeiros, 1ª ed., 232 p., **2009**.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, CLSI. Performance strandards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI press, 28ª ed. **2018**.

CORBEL, S; MOUGIN, C; MARTIN-LAURENT, F; CROUZET, O; BRU, D; NÉLIEU, S; BOUAÏCHA, N. Evaluation of phytotoxicity and ecotoxicity potentials of a cyanobacterial extract containing microcystins under realistic environmental concentrations and in a soil–plant system. **Chemosphere**, 128: 332-340, 2018.

COSTA, F. N., LEITÃO, G. G. Strategies of solvent system selection for the isolation of flavonoids by countercurrent chromatography. **Journal of Separation Science**, 33: 336-347, 2010.

DATAR, P; SHINDE, V. Solid waste management by using coconut shell powder as an aggregate material in construction bricks. **International Journal of Scientific and Engeneering Research**, 8(4):341-345, 2017.

DHANASEKARAN, D. Microbial Biofilms: Importance and Applications. IntechOpen, 1ª ed., **2016**.

DEC, W; MOSIALEK, M; SOCHA, RP; JAWORSKA-KIK, M; SIMKA, W; MICHALSKA, J. The effect of sulphate-reducing bacteria biofilm on passivity and development of pitting on 2205 duplex stainless steel. **Electrochimica Acta**, 212: 225-236, 2016.

DELBARRE-LADRAT, C; SINQUIN, C; LEBELLENGER, L; ZYKWINSKA, A; COLLIEC-JOUAULT, S. Exopolysaccharides produced by marine bacteria and their applications as glycosaminoglycan-like molecules. **Frontiers in Chemistry**, 2 (81): 1-15, 2014.

DIAS-SOUZA, MV; SOARES, DL; SANTOS, VL. Comparative study of free and liposome-entrapped chloramphenicol against biofilms of potentially pathogenic bacteria isolated from cooling towers. **Saudi Pharmaceutical Journal**, 7: 999-1004, 2017.

DIXON, RA; XIE, DY; SHARMA, SB. Proanthocyanidins: a final frontier in flavonoid research. **The New Phytologist**, 165(1):9-28, 2005.

DOW CHEMICAL COMPANY. Oil and Gas Biocide Guide Selection. **Water Treatment Microbicides**, 8 p. 2010. Disponível em: http://msdssearch.dow.com/PublishedLiterature_DOWCOM/dh08b6/0901b803808b64bc.pdf?filepath=microbial/pdfs/noreg/253-02697.pdf&fr omPage=GetDoc. Acessado em: 15/03/2015.

DUAN, W; MENG, F; CUI, H; LIN, Y; WANG, G; WU, J. Ecotoxicity of phenol and cresols to aquatic organisms: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 157: 441-456, 2018.

EUROPEAN CHEMICALS AGENCY - ECHA. Guidance on the Biocidal Products Regulation. ECHA Press, 2ª ed., **2017**.

ELIZONDO, AM; MERCADO, E; RABINOVITZ, EC; FERNANDEZ-MIYAKAWA, ME. Effect of tannins on the in vitro growth of Clostridium perfringens. **Veterinary Microbiology**, 145: 308–314, 2010.

ELSAYED, AA; ELSHAZLY, YMS. Corrosion Inhibition of Carbon Steel in Chloride and Sulfate Solutions. **Journal of Engineering Research and Applications**, 6(2): 01-06, 2016.

EMERSON, D; FLEMING, EJ; MCBETH, JM. Iron-oxidizing bacteria: An environmental and genomic perspective. **Annual Review in Microbiology**, 64:561-583. 2010.

ENNING, D; GARRELFS, J. Corrosion of Iron by Sulfate-Reducing Bacteria: New Views of an Old Problem. **Applied and Environmental Microbiology**, 80(4): 1226-1236. 2014.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, EPA. Parameters of Water Quality: Interpretation and Standars. Environmental Protection Agency Press, 1ª ed. 133p., **2001**. Disponível em: https://www.epa.ie/pubs/advice/water/quality/Water_Quality.pdf. Acessado em: 05/01/2018.

ESQUENAZI, D.; WIGG, MD; MIRANDA, MM; RODRIGUES, HM; TOSTES, JB; ROZENTAL, S. SILVA, AJ; ALVIANO, CS. Antimicrobial and antiviral activities of polyphenolics from *Cocos nucifera* Linn (*Palmae*) husk fiber extract. **Research in Microbiology**, 153 (10): 647-652, 2002.

FALKIEWICZ-DULIK, M; JANDA, K; WYPYCH, G. Handbook of Material Biodegradation, Biodeterioration, and Biostabilization: Industrial Biocides. ChemTech Publishing, 2ª ed., cap. 2, p. 33-65. **2015**.

FAOSTAT. Data of coconut production. 2016. Disponível em: http://www.fao.org/faostat/. Acessado em 04/01/2018.

FASMIN, F; SRINIVASAN, R. Review—Nonlinear Electrochemical Impedance Spectroscopy. **Journal of The Electrochemical Society**, 164(7): H443-H455, 2017.

FEI, FL; HU, J; WEI, JW; YU, QJ; CHEN, ZS. Corrosion performance of steel reinforcement in simulated concrete pore solutions in the presence of imidazoline quaternary ammonium salt corrosion inhibitor. **Construction and Building Materials**, 70: 43-53. 2014.

FINE, AM. Oligomeric Proanthocyanidin Complexes: History, Structure, and Phytopharmaceutical Applications. **Alternative Medicine Review**, 5(2): 144-151, 2000.

FLEMING, E; CETINIC, I; CHAN, C; KING, DW; EMERSON, D. Ecological succession among iron-oxidizing bactéria. **International Society for Microbial Ecology Journal**, 8: 804-815. 2014.

FRANCESCHINI, IM; BURLIGA, AL; REVIERS, B; PRADO, JF; HAMLAOUI, S. Algas: Uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica. Artmed, 1ª ed., **2009**.

FREITAS, BM; NETO, JCM; SILVA, RS; GUSMÃO, ARB; FREITAS, LB. Microestrutura e microdureza do aço SAE 1020 em diferentes tratamentos térmicos. Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia, Paraná/Brasil, **2016**.

GADE, AL; HEIAAS, H; LILLICRAP, A; HYLLAND, K. Ecotoxicity of paint mixtures: Comparison between measured and calculated toxicity. **Science of The Total Environment**, 435: 526-540, 2012.

GALVÃO, MM. Efeito do potencial de proteção catódica na corrosão microbiologicamente induzida. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Escola de Química – EQ. 104 p. **2008**.

GENTIL, V. Corrosão. Ed. LTC. 6ª ed. **2012**.

GERENGI, H. The use of dynamic electrochemical impedance spectroscopy in corrosion inhibitor studies. **Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces**, 54(3): 536-540, 2018.

GU, T. Can acid producing bacteira be responsible for very fast MIC pitting? **NACE International Publications**. Publicação nº C2012-0001214. 2012.

GUAN, F; ZHAN, X; DUAN, J; ZHANG, M; HOU, B. Influence of Sulfate-Reducing Bacteria on the Corrosion Behavior of High Strength Steel EQ70 under Cathodic Polarization. **PLOS one**, 11(9): 1-22, 2016.

HAYS, GF. Now is the time. **World Corrosion Organization**. 2009. Disponível em: http://corrosion.org/wco_media/nowisthetime.pdf. Acessado em: 15/06/2015.

HAMZAH, E.; ABDOLAHI, A.; HUSSAIN, MZ; IBRAHIM, Z. Influence of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria on corrosion resistance of 304 stainless steel. **Corrosion Engineering Science Technology**, 48(2): 116-120. 2013.

HE, F; PAN, QH; SHI, YS; DUAN, CQ. Biosynthesis and Genetic Regulation of Proanthocyanidins in Plants. **Molecules**, 13: 2674-2703, 2008.

HEDRICH, S; SCHLÖMANN, M; JHONSON, DB. The iron-oxidizing proteobacteria - Review. **Microbiology**, 157: 1551–1564. 2011.

HEMINGWAY, RW; LAKS, PE. Plant Polyphenols. Plenum Press. 1ª ed. **1992**.

IERVOLINO, M; MANCINI, B; CRISTINO, S. Industrial Cooling Tower Disinfection Treatment to Prevent *Legionella* spp. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, 14(10): 1125-1139, 2017.

IKECHUKWU, EE; PAULINE, EO. Environmental impacts of corrosion on the physical properties of copper and aluminum: A case study of the surrounding water bodies in Port Harcourt. **Open Journal of Social Sciences**, 3: 143-150, 2015.

JAVED, MA; STODDART, PR; WADE, SA. Corrosion of carbon steel by sulphate reducing bacteria: Initial attachment and the role of ferrous ions. **Corrosion Science**, 93: 48-57. 2015.

JAVED, MA; NEIL, WC; MCADAMS, G; WADE, SA. Effect of sulphate-reducing bacteria on the microbiologically influenced corrosion of ten different metals using constant test conditions. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 125: 73-85, 2017.

JONKER, A; YU, P. The Occurrence, Biosynthesis, and Molecular Structure of Proanthocyanidins and Their Effects on Legume Forage Protein Precipitation, Digestion and Absorption in the Ruminant Digestive Tract. **International Journal of Molecular Sciences**, 18: 1-23, 2017.

JONG, IH; RAGAS, MJ; HENDRICS, HWM; HUIJBREGTS, MAJ; POSTHUMA, L; WINTERSEN, A; HENDRIKS, AJ. The impact of an additional ecotoxicity test on ecological quality standards. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 72(8): 2037-2045, 2009.

JORDAN, MA. The analysis of natural and sulfited commercial quebracho (*Schinopsis lorentzii*) and acacia (*Acacia mearsii*) proanthocianidin extract with electrospray ionisation mass spectrometry. Tese (Doutorado em Ciências) – University of the Free State Bloemfontein, Department of Chemistry Faculty of Natural and Agricultural Sciences. **2013**.

JUIKAR, SJ; VIGNESHWARAN, N. Extraction of nanolignin from coconut fibers by controlled microbial hydrolysis. **Industrial Crops and Products**, 109:420-425, 2017.

KARSA, DR. Handbook for Cleaning /Decontamination of Surfaces – Biocides. Elsevier, 1ª ed. Vol. 1, cap. 2, p. 593-623. **2007**.

KHAN, R; GUPTA, AK. Screening and Optimization of Organic acid Producers from Mine Areas of Chhattisgarh Region, India. **International Journal of Current microbiology and Applied Sciences**, 4(2): 103-11. 2015.

KHARILAS, GA; BLOTEVOGEL, J; STEWART, PS; BORCH, T. Biocides in Hydraulic Fracturing Fluids: A Critical Review of Their Usage, Mobility, Degradation, and Toxicity. **Environmental Science and Technology**, 49(1): 16-32. 2015.

KOBETICOVÁ, K; CERNY, R. Ecotoxicology of building materials: A critical review of recent studies. **Journal of Cleaner Production**, 165: 500-508, 2017.

KOCH, GH; BRONGERS, MPH; THOMPSON, NG. Corrosion costs and preventive strategies in the United States. **NACE International Publications**. Publicação nº FHWA-RD-01-156, 2002. Disponível em: https: //www.nace.org/uploadedFiles/Publications/ccsupp.pdf. Acessado em: 15/06/2015.

KONG, IC; KO, KS; LEE, MH; LEE, JH; HAN, YH. Ecotoxicity evaluation of Cu- and Fe-CNT complexes based on activity of bacterial bioluminescence and seed germination. **Journal of Environmental Sciences**, 67: 198-205, 2018.

KÜHR, CAHVW; FLUGT, LSVD. De grafiteering van gietizer als eletrobiochemisch proces anaerobe gronden. **Water**, 18: 147-165. 1934. *TRADUÇÃO: Graphhitization of cast iron as an electro-biochemical process in anaerobc soils. United States Army – Biological Laboratories, 1961*.

LANDOULSI, J; COOKSEY, KE; DUPRES, V. Review – Interactions between diatoms and stainless steel: focus on biofouling and biocorrosion. **Biofouling**, 27: 1105-1124, 2011.

LATA, S; SHARMA, C; SINGH, A. Microbial influenced corrosion by thermophilic bacteria. **Central European Journal of Engineering**, 2(1): 113-122, 2012.

LEKBACH, Y; XU, D; ABED, SE; DONG, Y; LIU, D; KHAN, MS; KORAICHI; YANG, K. Mitigation of microbiologically influenced corrosion of 304L stainless steel in the presence of *Pseudomonas aeruginosa* by *Cistus ladanifer* leaves extract. **International Biodeterioration and Biodegradation**, 133: 159-169, 2018.

LEMBRE, P; LORENTZ, C; DI MARTINO, P. Exopolysaccharides of the Biofilm Matrix: A Complex Biophysical World, The Complex World of Polysaccharides. InTech (Cap. 13): 371-392. **2012**. Disponível em: http:// www.intechopen.com/books/the-complex-world-of-polysaccharides/exopolysaccharides-of-the-bio film-matrix-a-complex-biophysical-world. Acessado em: 01/02/2015.

LI, BB; CHENG, YY; FANA, YY; LIU, DF; FANG, CY; WU, C; LI, WW; YANG, ZY; YU, HQ. Estimates of abundance and diversity of Shewanella genus in natural and engineered aqueous environments with newly designed primers. **Science of The Total Environment**, 637/638: 926-933, 2018.

LI, G; CHEN, J; YAN, W; SANG, N. A comparison of the toxicity of landfill leachate exposure at the seed soaking and germination stages on Zea mays L. (maize). **Journal of Environmental Sciences**, 55: 206-213, 2016.

LIANG, R; GRIZZLE, RS; DUNCAN, KE; MCINERNEY, MJ; SULFLITA. JM. Roles of thermophilic thiosulfate-reducing bacteria and methanogenic archaea in the biocorrosion of oil pipelines. **Frontiers in Microbiology**, 5(89): 1-12, 2014.

LIBOS, H. Manutenção industrial – corrosão. **Portal Ed Qd Ltda**, 2010. Disponível em: http://www.quimica.com.br/pquimica/manutencao-industrial/manutencao-industri al-corrosao. Acesso em 26/07/2013.

LIENGEN, T; BASSEGUY, R; FERON, D; BEECH, I; BIRRIEN, V. Understanding Biocorrosion: Fundamentals and Applications. Woodhead Publishing, 1ª ed. **2014**.

LIMA, EBC; SOUSA, CNS; MENESES, LN; XIMENES; SANTOS; MAJ; VASCONCELOS, GS; LIMA NDC; PATROCÍNIO, MCA; MACEDO, D; VASCONCELOS, SMM. *Cocos nucifera* (L.) (*Aracaceae*): A phytochemical and pharmacological review. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 48 (11): 953-964, 2015.

LIN, HY; CHANG, TC; CHANG, ST. A review of antioxidant and pharmacological properties of phenolic compounds. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, *article in press*, 2018.

LITTLE, BJ; LEE, JS. Microbiologically influenced corrosion. Wiley, 1ª ed. 294 p. **2007**.

LITTLE, B; RAY, R. A review of fungal influenced corrosion. **Corrosion Reviews**, 19(5-6): 401-419, 2011.

LIU, H; YU, T; LIU, YY. Sulfate reducing bacteria and their activities in oil sands process-affected water biofilm. **Science of The Total Environment**, 536: 116-122, 2015.

LIU, Y; ZHANG, W; SILEIKA, T; WARTA, R; CIANCIOTTO, NP; PACKMAN, A. Role of bacterial adhesion in the microbial ecology of biofilms in cooling tower systems. **Biofouling**, 5(3): 241–253, 2009.

LIU, Y; ZHANG, W; SILEIKA, T; WARTA, R; CIANCIOTTO, NP; PACKMAN, A. Disinfection of bacterial biofilms in pilot-scale cooling tower systems. **Biofouling**, 27(4): 393-402, 2011.

LORENZI, H. & MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas. 1ª Edição. Nova Odessa-SP: Intituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, 1ª ed., 576 p. **2002**.

LOTO, CA. Microbiological corrosion: mechanism, control and impact—a review. **The International Journal of Advanced Manufacturing Technology**, 92(9-12): 4241-4252, 2017.

LUO, Y; LIANG, J; ZENG, G; CHEN, M. MO, D; LI, G; ZHANG, D. Seed germination test for toxicity evaluation of compost: Its roles, problems and prospects. **Waste Management**, 71: 109-114, 2018.

MA, CM; CHENG, CL; LEE, SC; HONG, GB. Antioxidant capacity, insecticidal ability and heat-oxidation stability of *Tagetes lemmonii* leaf extract. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 151: 68-75, 2018.

MA, ZF; ZHANG, H. Phytochemical Constituents, Health Benefits, And Industrial Applications of Grape Seeds: A Mini-Review. **Antioxidants**, 6(3): 71-82, 2017.

MAAB, P; PEIBKER, P. Handbook of hot-dip galvanization. Wiley-VCH, 3ª ed. 473 p. **2011**.

MAAZOUN, AM; HLEL, BT; HAMDI, SH; BELHADJ, F; MEDIOUNI, J; JEMÂA, B; MARZOUKI, MN. Screening for insecticidal potential and acetylcholinesterase activity inhibition of Urginea maritima bulbs extract for the control of Sitophilus oryzae (L.). **Journal of Asian-Pacific Entomology**, 20(3): 752-760, 2017.

MADIGAN, MT; MARTINKO, JM; BENDER, KS; BUCKLEY, DH; STAHL,DA . Microbiologia de Brock. Ed. Artmed. 14ª ed.., **2016**.

MANFROIL, V.; COSTA, GP; GUERRA, CC; ZANAUS, MC; FIALHO, FB; ROMBALDI, CV. Aplicação de taninos enológicos na elaboração de vinho Cabernet Sauvignon e seus efeitos sobre a qualidade sensorial. **Ciência Rural**, 40(1): 175-180, 2010.

MARÇO, PH; POPPI, RJ; SCARMINIO, IS. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, 31(5): 12218-1223, 2008.

MARQUES, MR; PAZI, DD; BATISTA, LPR; BARBOSA, CO; ARAÚJO, MAM; MOREIRA-ARAÚJO, RSR. An in vitro analysis of the total phenolic content, antioxidant power, physical, physicochemical, and chemical composition of *Terminalia catappa* Linn fruits. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 32(1): 209-213, 2012.

MARTINEZ, S; STAGLIAR, L. Correlation between the molecular structure and the corrosion inhibition efficiency of chestnut tannin in acidic solutions**. Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, 640(1-3): 167-174, 2003.

MARTINS, GR. A química de taninos condensados: Estudo baseado em espécies da família *Aracaceae* (*Palmae*). Tese (Doutorado em Química de Produtos Naturais) - Universidade Federal do Rio de Janeiro – IFRJ, Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais – IPPN. **2016**.

MARTINS, CR. Produção e comercialização de coco no Brasil frente ao comércio internacional: panorama 2014. EMBRAPA Tabuleiros Costeiros, 1ª ed., 51 p., **2014**.

MCNEILL, LS; EDWARDS, M. Review of iron pipe corrosion in drinking water distribution systems. **Journal of American Water Works Organization**, 93(7): 88-100, 2001.

MENDES, T; HORTA, EG; CONÇALVES, RP; VENTURINI, OJ; PIRANI, MJ. Seleção de características em um sistema de refrigeração para identificar degradações em seus componentes. XIII Congresso Brasileiro em Inteligência Computacional, Rio de Janeiro/Brasil. **2017**. Disponível em: http://cbic2017.org/papers/cbic-paper-91.pdf. Acessado em: 13/02/2018.

MILLER, JM; PINCUS, DH. Microbial Identification Using the Biomérieux VITEK® 2 SYSTEM. Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods. Hardcover, vol 2, cap 1. 2006. Disponível em: https://store.pda.org/TableOfContents/ERMM_V2_Ch01.pdf. Acessado em: 07/01/2015.

MIRAN, J; JANG, J; NAWAZ, M; SHAHZAD, A; LEE, DS. Sulfate-reducing mixed communities with the ability to generate bioelectricity and degrade textile diazo dye in microbial fuel cells. **Journal of Hazardous Materials**, 352: 70-79, 2018.

MOLINARO, EM; CAPUTO, LFG; AMENDOEIRA, MRR. Conceitos e métodos para a formação de profissionais em saúde. Instituto Oswaldo Cruz, vol 4. **2009**. Disponível em: http://www.fiocruz.br/ioc/media/ConceitosMetodos_volume4.pdf. Acessado em: 17/05/2015.

MOO-YANG, M. Comprehensive Biotechnology. Elsevier, 1ª ed. vol. 1. Seção 1.9 - 4531 p. **2011**.

MORALES, GC. Ensayos Toxicologicos y Métodos de Evaluacion de Calidad de Aguas: Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. México, Instituto Mexicano de Tecnología del Agua-IMTA, 1 ed. **2004**.

MORTENSEN, B; SKAAR, E. The contribution of nutrient metal acquisition and metabolism to Acinetobacter baumannii survival within the host. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, 3: 1-10, 2013.

MURHEKAR, S; WRIGHT, MH; GREENE, AC; BROWNLIE, JC; COCK, IE. Inhibition of Shewanella spp. growth by Syzygium austral and Syzygium luehmannii extracts: natural methods for the prevention of fish spoilage. **Journal of Food and Science Technology**, 54(10):3314-3326, 2017.

MUTHUKRISHNAN, P; JEYAPRABHA, B; PRAKASH, P. Adsorption and corrosion inhibiting behavior of Lannea coromandelica leaf extract on mild steel corrosion. **Arabian Journal of Chemistry**, 10(2): S2343-S2354, 2017.

MUYZER, G; STAMS, AJM. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. **Nature Reviews – Microbiology**, 6: 441-454, 2008.

NACE, National Association Corrosion Engineers. Corrosion cost and preventive strategies in the United States. **NACE International Publications**, nº FHWA-RD-01-156, 2012. Disponível em: http://www.nace.org/uploadedFiles/Publications/ccsupp.pdf. Acessado em: 26/07/2013.

NAVARRO, M; ZAMORA, W; QUESADA, S; AZOFEIFA, G; ALVARADO, D; MONAGAS, M. Fractioning of Proanthocyanidins of Uncaria tomentosa. Composition and Structure-Bioactivity Relationship. **Antioxidants**, 6(3): 1-13, 2017.

NG, DQ; LIN, YP. Effects of pH value, chloride and sulfate concentrations on galvanic corrosion between lead and copper in drinking water. **Environmental chemistry**, 13(4): 602-610, 2016.

NGUYEN, CK; CLARK, BN; STONE, KR; EDWARDS, MA. Role of Chloride, Sulfate, and Alkalinity on Galvanic Lead Corrosion. **Corrosion**, 67(6): 0650051-0650059, 2011.

NOGARA, J; ZARROUK, SJ. Corrosion in geothermal environment: Part 1: Fluids and their impact. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 82: 1333-1346, 2018.

NOLLET, LML; TOLDRÁ, F. Handbook of Analysis of Active Compounds in Functional Foods. CRC Press, 1ª ed. **2012**.

NWODO, UU; GREEN, E; OKOB, AI. Bacterial Exopolysaccharides: Functionality and Prospects. International **Journal of Molecular Science**, 13(11): 14002-14015, 2012.

OPEL, O; EGGERICHS, T; OTTE, T; RUCK, WKL. Monitoring of microbially mediated corrosion and scaling processes using redox potential measurements. **Bioeletrochemistry**, 97: 137-144, 2014.

PADUMASA, C; DHARMADANA, D; ABEYSEKERA; AM; THAMMITIYAGODAGE, MG. Ivestigation of aqueous soluble proanthocyanidins in the inflorescence of *Cocos nucifera* L. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, 5(1): 36-41, 2016.

PAJKOSSI, T.; JURCZAKOWSKI, R. Electrochemical impedance spectroscopy in interfacial studies. **Current Opinion in Eletrochemistry**, 1(1): 53-58, 2017.

PARK, YS; JEON, MH; HWANG, HJ; PARK, MR; LEE, SH; KIM, SG; KIM, M. Antioxidant activity and analysis of proanthocyanidins from pine (Pinus densiflora) needles. **Nutrition Research and Practice**, 5(4):281-287, 2011.

PAUL, O; SHAKOOR, A; MOHAMED, AMA. Environmental factor affecting corrosion of pipelines steel: A review. **International Journal of Mechanical and Production Engineering Research and Development**, 5(5): 57-70, 2015.

PAYET-BURIN, R; BERTONI, F; DAVIDSEN, C; BAUER-GOTTWEIN, P. Optimization of regional water - power systems under cooling constraints and climate change. **Energy**, 155: 484-494, 2018.

PECK, HD. Enzimatic basis for assimilatory and dissimilatory sulfate reduction. **Journal of Bacteriological,** 82(6): 933-939. 1961.

PEIX, A; RAMIREZ-BAHENA, MH; VELÁZQUEZ, E. The current status on the taxonomy of *Pseudomonas* revisited: An update. **Infection, Genetics and Evolution**, 57: 106-116, 2018.

PERES, RS; CASSEL, E; AZAMBUJA, DS. Black Wattle Tannin As Steel Corrosion Inhibitor. **International Scholarly Research Notices**, 2012: 1-12, 2012.

PERES, RS; ARMELIN, E; ALEMAN, C; FEREIRA, CA. Modified tannin extracted from black wattle tree as an environmentally friendly antifouling pigment. **Industrial Crops and Products**, 65: 506-514, 2015.

PETERS, JW; SCHUT, GJ; BOYD, ES; MULDER, DW; SHEPARD, EM; BRODERICK, JB; KING, PW; ADAMS, MWW. [FeFe]- and [NiFe]-hydrogenase diversity, mechanism, and maturation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, 183(6): 1350-1369, 2015.

PETROBRAS. Expandindo limites. **Portal PETROBRAS – 60 anos**, 2013. Disponível em: http://www.petrobras.com.br/pt/energia-e-tecnologia/tecnologia-e-pesquisa/expandindo-os-limites/. Acesso em: 26/07/2013.

PLUGGE, CM; ZHANG, W; SCHOTLEN, JCM; STAMS, AJM. Metabolic Flexibility of Sulfate-Reducing Bacteria. **Frontiers in Microbiology**, 2: 1-8, 2011.

POKORNA, D.; ZABRANSKA, J. Sulfur-oxidizing bacteria in environmental technology. **Biotechnology Advances**, 33: 1246-1259. 2015.

POPOV, BN. Corrosion Engeneering: Principlesand Solved Problems. Elsevier, 1ª ed., 790 p. **2015**.

PORTER, L.J., HRSTICH, L.N. CHAN, B.G., The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. **Phytochemistry**, 25: 223-230, 1986.

POSTGATE, JR. Recent Advances in the Study of the Sulfate-Reducing Bacteria. **Bacteriological Reviews**, 29 (4): 425-441. 1965.

POTEKHINA, JS; SHERISHEVA, NG; POVETKINA, LP; POSPELOV, AP; RAKITINA, TA; WARNECKE, F; GOTTSCHALK, G. Role of microorganisms in corrosion on inhibition of metals in aquatic habitats. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 52: 639-646. 1999.

POURBAIX, M. Atlas of Electrochemical Equilibria in Aqueous Solutions. NACE International, 2ª ed. **1974**.

PRABHA, SS; RATHISH, J; DOROTHY, R; BRINDHA,G; PANDIARAJAN, M; AL-HASHEM, A; RAJENDRAN, S. Corrosion problems in petroleum industry and their solution. **European Chemical Bulletim**, 3(3): 300-307, 2014.

PRADO, JM; FOSTER-CARNEIRO, T; ROSTAGNO, MA; FOLLEGATTI-ROMERO, LA; MAUGERI, F; MEIRELES, MAA. Obtaining sugars from coconut husk, defatted grape seed, and pressed palm fiber by hydrolysis with subcritical water. **The Journal of Supercritical Fluids**, 89: 89-98, 2014.

QU, Q; WANG, L.; LI, L.; HE, Y.; YANG, M.; DING, Z. Effect of the fungus, Aspergillus niger, on the corrosion behaviour of AZ31B magnesium alloy in artificial seawater. **Corrosion Science**, 98: 249-259. 2015.

QUEIROZ, AA; LEMOS, SAL; NASCIMENTO, EA. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, 26(4): 485-492, 2002.

RAHIM, AA; ROCCA, E; STEINMETZ, J; KASSIM, MJ; ADNAN, R; IBRAHIM, MS. Mangrove tannins and their flavanoid monomers as alternative steel corrosion inhibitors in acidic medium. **Corrosion Science**, 49(2): 402-417, 2007.

RAMOS, A. Eletromagnetismo. Blucher, 1ª ed. **2016**.

RATTE, HT; HAMMERS-WIRTZ, M; CLEUVERS, M. Trace metals and other contaminants in the environment. Elsevier, 1ª ed., vol. 6, cap. 7, p. 221-256. **2003**.

REBAYA, A; BELGHITH, SI; BAGHDIKIAN, B; LEDDET, VM; MABROUK, F; OLIVIER, E; CHERIF, JK; AYADI, MT. Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content, and Antioxidant Capacity of Halimium halimifolium (*Cistaceae*). **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, 5(1): 52-57, 2014.

REVIER, R.W.; UHLIG, H.H. Corrosion and Corrosion Control: An introduction to corrosion Science and Engineering. Willey-Interscience. 4ª ed. 2008.

RIBEIRO, D; SIMÕES, D. Biocides. Reference Module in Life Science, 1ª ed. **2018**.

ROBERGE, PR. Handbook of Corrosion Engeneering. New York, McGraw-Hill Companies, Inc., 2ª ed., **2012.**

ROCHA, TL; MESTRE, NC; SABOIA-MORAIS, SMT; BEBIANO, MJ. Environmental behaviour and ecotoxicity of quantum dots at various trophic levels: A review. **Environmental International**, 98: 1-17, 2017.

RODRIGUES, GS; MARTINS, CR; BARROS, I. Sustainability assessment of ecological intensification practices in coconut production. **Agricultural Systems**, 165: 71-84, 2018.

ROVETTA, SM; ABDALLA, AJ; SCHEID, VHB; KHOURI, S; OTANI, C; MIYAKAWA, W. Fungi influenced corrosion on nitrocarburized multiphase 4340 steel. **Revista Brasileira de Aplicações de Vácuo**, 32(1-2): 7-11. 2013.

SACCO, A. Electrochemical impedance spectroscopy as a tool to investigate the electroreduction of carbon dioxide: A short review. **Journal of CO_2 Utilization**, 27: 22-31, 2018.

SALWICZEK, M; QU, Y; GARDNER, J; STRUGNELL, RA; LITHGOW, T; MCLEAN, KM; THISSEN, H. Emerging rules for effective antimicrobial coatings. **Trends in Biotechnology**, 32(2): 82-90. 2014.

SANTOS, DC; SILVA, L; ALBUQUERQUE, A; SIMÕES, R; GOMES, AC. Biodegradability enhancement and detoxification of cork processing wastewater molecular size fractions by ozone. **Bioresource Technology**, 147: 143-151, 2013.

SASTRI, VS. Corrosion inhibitors: principles and applications. Wiley, 1ª ed. **1998**.

SASTRI, VS. Green corrosion inhibitors: theory and practice. Wiley, 1ª ed. **2011**.

SAXENA, A; PRASAD, D; HALDAHAR, R; SINGH, G; KUMAR, A. Use of Saraca ashoka extract as green corrosion inhibitor for mild steel in 0.5 M H2SO4. **Journal of Molecular Liquids**, 258: 89-97, 2018.

SAXENA, A; PRASAD, D; HALDAHAR, R; Investigation of corrosion inhibition effect and adsorption activities of Cuscuta reflexa extract for mild steel in 0.5M H2SO4. **Bioeletrochemistry**, *article in press*, 2018.

SCHIWY, A; MAES, HM; KOSKE, D; FLECKEN, M; SCHMIDT, KR; SCHELL, H; TIEHM, A; KAMPTNER, A; THÜMMLER, S; STANJEK, H; HEGGEN, M; DUNIN-BORKOWSKI, RE; BRAUN, J; SCHAFFER, A; HOLLERT, H. The ecotoxic potential of a new zero-valent iron nanomaterial, designed for the elimination of halogenated pollutants, and its effect on reductive dechlorinating microbial communities. **Environmental Pollution**, 216: 419-427, 2016.

SCHIMID, J. Recent insights in microbial exopolysaccharide biosynthesis and engineering strategies. **Current Opnion in Biotecnology**, 53: 130-136, 2018.

SHAIKH, Z; QURESHI, P. Screening and Isolation of organic acid producers from samples of diverse habitats. **International Journal of Current Microbiology an Applied Science**, 2(9): 39-44. 2013.

SHAO, Y; HU, Z; MOU, R; ZHU, Z; BETA, T. Phenolic acids, anthocyanins, proanthocyanidins, antioxidante activity, minerals and their correlations in non-pigmented, red, and black rice. **Food Chemistry**, 239: 27-36, 2018.

SHMITT, G. Global needs for knowledge dissemination, research, and development in materials deterioration and corrosion control. **World Corrosion Organization**. 2009. Disponível em: http:// corrosion.org/wco_media/whitepaper.pdf. Acessado em: 15/06/2015.

SHAY, PE; TROFYMOW, JA; CONSTABEL, CP. An improved butanol-HCl assay for quantification of water-soluble, acetone:methanol-soluble, and insoluble proanthocyanidins (condensed tannins). **Plant Methods**, 13: 1-11, 2017.

SHOJI, T; MASUMOTO, S; MORIICHI, N; AKIYAMA, H; KANDA, T; OHTAKE, Y; GODA, Y. Apple procyanidin oligomers absorption in rats after oral administration: analysis of procyanidins in plasma using the porter method and high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54(3): 884-892, 2006.

SIENIAWSKA, E; BAJ, T. Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategies. Academic Press, 1ª ed., cap. 10, p. 199-232, **2017**.

SKOVHUS, TL; CAFFREY, SM; HUBERT, CRJ. Applications of molecular microbiological methods. Caister Academic Press, 1 ed. 228 p. **2014**.

SLOTT, JED; ABDULLAHI, AA. Corrosion in Microbial Environments. **Reference Module in Materials Science and Materials Engineering**, 2: 1169-1190, 2018.

SOARES, J; DEMEKE, MM; FOULQUIÉ-MORENO, MR; VELDE, MV; VERPLAETSE, A; FERNANDES, AAR; THEVELEIN, JM; FERNANDES, PMB. Green coconut mesocarp pretreated by an alkaline process as raw material for bioethanol production. **Bioresource Technology**, 216: 744-753, 2016.

SPASIANO, D; SICILIANO, A; RACE, M; MAROTTA, R; GUIDA, M; ANDREOZZI, R; PIROZZI, F. Biodegradation, ecotoxicity and UV254/H2O2 treatment of imidazole, 1-methyl-imidazole and N,N'-alkyl-imidazolium chlorides in water. **Water Research**, 106: 450-460, 2016.

STAVROU, LJ; CRHIST, A; KAPNISSI-CHRISTODOULOU, CP. Polyphenols in carobs: A review on their composition, antioxidant capacity and cytotoxic effects, and health impact. **Food Chemistry**, 269(15): 355-374, 2018.

SUN, B; SPRANGER, MI. Review: Quantitative extraction and analysis of grape and wine proanthocyanidins and stilbenes. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, 20(2): 59-89, 2005.

SWINEHART, DF. The Beer-Lambert Law. **Journal of Chemical Education**, 39(7): 333-335, 1962.

TAIT, WS. Handbook of Environmental Degradation of Materials: Electrochemical Corrosion Basics. 3ª ed., cap. 5, p. 97-115, **2018**.

TALBOT, TEJ; TALBOT, JDR. Corrosion Science and Technology. CRC press, 3ª ed. **2018**.

TAN, KW; KASSIM, MJ. A correlation study on the phenolic profiles and corrosion inhibition properties of mangrove tannins (Rhizophora apiculata) as affected by extraction solvents. **Corrosion Science**, 53(2): 569-574, 2011.

TAN, KW; KASSIM, MJ; OO, CW. Possible improvement of catechin as corrosion inhibitor in acidic medium. **Corrosion Science**, 65: 152–162, 2012.

TANG, K; BASKRAN, V; NEMATI, M. Bacteria of the sulphur cycle: An overview of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries. **Biochemical Engineering Journal**, 44: 73-94. 2009.

TANNER, K; VILANOVA, C; PORCAR, M. Bioprospecting challenges in unusual environments. **Microbial Biotechnology**, 10(4): 671-673, 2017.

TETRA PAK. Coconut handbook. Tetra Pak International S.A., 1ª ed., 183 p., 2016.

TROVATI, J. Tratamento de água de sistemas de resfriamento. Aquamec Environmental Solutions. 89 p. **2004**. Disponível em: http://www.snatural.com.br/PDF_arquivos/Torre-Caldeira-Tratamento-Agua.pdf. Acessado em: 30/05/2016.

VADAKKAN, K; CHOUDHURY, AA; GUNASEKARAN, R; HEMAPRIYA, J; VIJAYANAND, S. Quorum sensing intervened bacterial signaling: Pursuit of its cognizance and repression. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, *article in press*, 2018.

VELOSO, YMS; SOUZA, IES; SANTOS, JV; LEITE, MS. Reutilização da fibra da casca do coco verde para a produção de matéria-prima industrial. **Cadernos de Graduação**, 1(17): 91-98, 2013.

VENZLAFF, H; ENNING, D; SRINIVASAN, J; MAYRHOFER, KJJ; HASSEL, AW; WIDDEL, F; STRATMANN, M. Accelerated cathodic reaction in microbial corrosion of iron due to direct electron uptake by sulfate-reducing bacteria. **Corrosion Science**, 66: 88-96. 2013.

VENTER, PB; SISA, M; MERWE, MVD; BONNET, SL; WESTHUIZEN, JHV. Analysis of commercial proanthocyanidins. Part 1: The chemical composition of quebracho (Schinopsis lorentzii and Schinopsis balansae) heartwood extract. **Phytochemistry**, 73: 95-105, 2012.

VENTER, PB; SENEKAL, ND; AMRA-JORDAAN, M; BONNET, SL; WESTHUIZEN, JHV. Analysis of commercial proanthocyanidins. Part 2: An electrospray mass spectrometry investigation into the chemical composition of sulfited quebracho (Schinopsis lorentzii and Schinopsis balansae) heartwood extract. **Phytochemistry**, 78: 156-169, 2012.

VERMELHO, AB; FERREIRA, AP; COELHO, RRR; SOUTO-PADRON, T. Práticas em Microbiologia. Guanabara Koogan, 1ª ed. 225 p. **2006**.

VERMA, D. Biofiber reinforcement in composite materials: The use of coir/coconut fi bers as reinforcements in composites. Woodhead Publishing House, 1ª ed., cap. 10, p. 285-319, **2015**.

VERNA, C; SINGH, P; QURAISHI, MA. A thermodynamical, electrochemical and surface investigation of Bis (indolyl) methanes as Green corrosion inhibitors for mild steel in 1 M hydrochloric acid solution. **Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences**, *article in press*. 2015.

VIDELA, H. Manual of Biocorrosion. CRC Press, 1ª ed. 304 p. **1996**.

VIDELA, HA. Biocorrosão, biofouling e biodeterioração de materiais. Editora Edgard Blüncher Ltda. 1ª ed. 147 p. **2003**.

VIDELA, HA; HERRERA, LK. Microbiologically influenced corrosion: looking to the future. **International Microbiology**, 8: 169-180. 2005.

VIJAYAKUMAR, S; VASEEHARAN, B. Antibiofilm, anti cancer and ecotoxicity properties of collagen based ZnO nanoparticles. **Advanced Powder Technology**, *article in press*, 2018.

VIJAYAKUMAR, S; VASEEHARAN, B; MALAIKOZHUNDAN, B; DIVYA, M; ABHINAYA, M; GOBI, N; AATANU BHATTACHARYYA, A; BALASHANMUGAM, N; SURMISTHA, D; KADARKARAI MURUGAN, K; BENELLI, G. Ecotoxicity of Musa paradisiaca leaf extract-coated ZnO nanoparticles to the freshwater microcrustacean Ceriodaphnia cornuta. **Liminologica – Ecology and Management of Inland Waters**, 67: 1-6, 2017.

VINUTHA, MR; VENKATESHA, TV. Review on Mechanistic Action of Inhibitors on Steel Corrosion in Acidic Media. **Portugaliae Electrochimica Acta**, 34(3): 157-184, 2016.

VU, B; CHEN, M; CRAWFORD, RJ; IVANOVA, EP. Bacterial extracellular polysaccharide involved in biofilm formation. **Molecules**, 14: 2535-3554. 2009.

WADOOD, HZ; RAJASEKAR, A; TING, YP; SABARI, AN. Role of Bacillus subtilis and Pseudomonas aeruginosa on Corrosion Behaviour of Stainless Steel. **Arabian Journal of Science Engineering**, 40: 1825-1836. 2015.

s

Author links open overlay panelZhilingWang[ab]ZhongZhao[a]XiaofeiCheng[b]SuqiLiu[c]QinWei[a]Ian M.Scott[b]

WANG, Z; ZHAO, Z; CHENG, X; LIU, S; WEI, Q; SCOTT, IM. Conifer flavonoid compounds inhibit detoxification enzymes and synergize insecticides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 127: 1-7, 2016.

WEBSTER, SJ; WRIGHT, MH; GREENE, AC; COCK, IE. Natural Methods for Preventing Fish Spoilage Using Indian *Terminalia* spp. Extracts: Growth Inhibition of *Shewanella* spp. **Pharmacognosy Communications**, 7(2): 66-75.

WEIDNER, S; RYBARCZYK, A; KARAMAĆ, M; KRÓL, A; MOSTEK, A; GRĘBOSZ, J; AMAROWICZ, R. Differences in the phenolic composition and antioxidant properties between *Vitis coignetiae* and *Vitis vinifera* seeds extracts. **Molecules**, 18: 3410-3426, 2013.

WHITEHEAD, TR; SPENCE, C; COTTA, MA. Inhibition of hydrogen sulfide, methane, and total gas production and sulfate-reducing bacteria in in vitro swine manure by tannins, with focus on condensed quebracho tannins. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 97(18): 8403-8409, 2013.

WIDSTEN, P; CRUZ, CD; FLETCHER, GC; PAJAK, MA; MCGHIE, TK. Tannins and Extracts of Fruit Byproducts: Antibacterial Activity against Foodborne Bacteria and Antioxidant Capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 62(46): 11146-11156, 2014.

WILLIAMSON, CHD; JAIN, L; MISHRA, B; OLSON, DL; SPEAR, JR. Microbially influenced corrosion communities associated with fuel-grade ethanol environments. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 99(16): 6945-6957, 2015.

WU, T; YAN, M; ZENG, D; XU, J; SUN, C; YU, C; KE, W. Stress Corrosion Cracking of X80 Steel in the Presence of Sulfate-reducing Bacteria. **Journal of Materials Science & Technology**, 31: 413-422. 2015.

WÜRGER, G; MCGAW, LJ; ELOFF, JN. Tannin content of leaf extracts of 53 trees used traditionally to treat diarrhoea is an important criterion in selecting species for further work. **South African Journal of Botany**, 90: 114-117, 2014.

XIAO, Y; ZHAO, P; YANG, Y; LI, M. Ecotoxicity evaluation of natural suspended particles using the microalga, Euglena gracilis. **Chemosphere**, 26: 802-808, 2018.

XIAOUI, G; YANG, L; YANHUI, Z; SHENGXIAN, C. Dynamic Simulation Experimental Study on Biofouling Formation of Iron Bacteria in Heat Transfer Equipment. **Energy Procedia**, 17:1648-1654, 2012.

XING, X; WANG, H; HU, C; LIU, L. Characterization of bacterial community and iron corrosion in drinking water distribution systems with O3-biological activated carbon treatment. **Journal of Environmental Sciences**, 69: 192-204, 2018.

YANG, L; XU, Y; ZHU, Y; LIU, L; WANG, X; HUANG, Y. Evaluation of Interaction Effect of Sulfate and Chloride Ions on Reinforcements in Simulated Marine Environment Using Electrochemical Methods . **International Journal of Electrochemical Science**, 11: 6943-6958, 2016.

YOSHIDA, A; YOSHINO, F; TSUBATA, M; IKEGUCHI, M; NAKAMURA, T; LEE, M. Direct assessment by electron spin resonance spectroscopy of the antioxidant effects of French maritime pine bark extract in the maxillofacial region of hairless mice. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, 49(2):79-86, 2011.

YU, L; DUAN, J; DU, X; HUANG, Y; HOU, B. Accelerated anaerobic corrosion of electroactive sulfate-reducing bacteria by electrochemical impedance spectroscopy and chronoamperometry. **Electrochemistry Communications**, 26: 101-104. 2013.

ZANG, J; LI, W; CHEN, J; QI, W; WANG, F. ZHOUR, Y. Impact of biofilm formation and detachment on the transmission of bacterial antibiotic resistance in drinking water distribution systems. **Chemosphere**, 203: 368-380, 2018.

ZHANG, S; MA, L; WEN, P; YE, X; DONG, R; SUN, W;FAN, M; YANG, D; ZHOU, F; LIU, W. The ecotoxicity and tribological properties of choline amino acid ionic liquid lubrificants. **Tribology International**, 121: 435-441, 2018.

ZHANG, SY; ZHENG, CG; YAN, XY; TIAN, WX. Low concentration of condensed tannins from catechu significantly inhibits fatty acid synthase and growth of MCF-7 cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 371(4): 654–658, 2008.

ZARASVANDI, KA; RAI, VR. Microorganisms: Induction and inhibition of corrosion in metals. **International Biodegradation and Biodeterioration**, 87: 66-74. 2014.

ZARIN, A; WAN, HY; ISHA, A; ARMANIA, N. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic potential of condensed tannins from *Leucaena leucocephala* hybrid-Rendang Mazni. **Food Science and Human Wellness**, 5(2): 65-75, 2016.

ZHAO, T; CHEN, Q. Antimicrobial Textiles: Halogenated phenols and polybiguanides as antimicrobial textile finishes. Woodhead Publishing Series in Textiles, 1ª ed., cap 9, p. 141-153. **2016**.

ZHAO, F; GUO, C; CUI, Q; HAO, Q; XIU, J; HAN, S; ZHANG, Y. Exopolysaccharide production by an indigenous isolate *Pseudomonas stutzeri* XP1 and its application potential in enhanced oil recovery. **Carbohydrate Polymers**, 199: 375-381, 2018.

ZIMOZINSKI, A; PERES, RS; FREIBERGER, K; FERREIRA, CA; TAMBORIM, SMM; AZAMBUJA, DS. Zinc tannate and magnesium tannate as anticorrosion pigments in epoxy paint formulations. **Progress in Organic Coatings**, 121: 23-29, 2018.