**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO**

**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA BIOQUÍMICA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS**

# FORMAÇÃO DE BIOFILMES E BIOCORROSÃO EM AÇO CARBONO AISI 1020 EXPOSTO EM SISTEMA AQUOSO CONTENDO DIFERENTES TEORES DE DIESEL/BIODIESEL

**IVANILDA RAMOS DE MELO**

Rio de Janeiro
2012

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO**

**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA BIOQUÍMICA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS**

# FORMAÇÃO DE BIOFILMES E BIOCORROSÃO EM AÇO CARBONO AISI 1020 EXPOSTO EM SISTEMA AQUOSO CONTENDO DIFERENTES TEORES DE DIESEL/BIODIESEL

TESE APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU EM DOUTOR EM CIÊNCIAS (D.Sc.).

Orientadores: Francisca Pessoa de França, D.Sc.

Fernando Jorge Santos de Oliveira, D.Sc.

Rio de Janeiro

2012

## FICHA CATALOGRÁFICA

M528f Melo, Ivanilda Ramos de.

Formação de Biofilmes e Biocorrosão em Aço Carbono AISI 1020 Exposto em sistema Aquoso Contendo Diferentes Teores de Diesel/Biodiesel /Ivanilda Ramos de Melo - 2012.
xxxi, 107 f.: il.

Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2012.
Orientadores: Francisca Pessoa de França e Fernando Jorge Santos de Oliveira.

1. Biofilmes. 2. Aço carbono. 3. Diesel. 4. Biodiesel. 5. Biocorrosão. 6. Biodegradação. Teses. I. França, Francisca Pessoa de. (Orient.). II. Oliveira, Fernando Jorge Santos de. (Orient.). III. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Programa em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química. IV. Título.

CDD: 620.112 23

Ivanilda Ramos de Melo

**FORMAÇÃO DE BIOFILMES E BIOCORROSÃO EM AÇO CARBONO AISI 1020 EXPOSTO EM SISTEMA AQUOSO CONTENDO DIFERENTES TEORES DE DIESEL/BIODIESEL**

TESE APRESENTADA À ESCOLA DE QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO, COMO REQUISITO PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM CIÊNCIAS (TECNOLOGIA DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS).

Aprovada por:

Francisca Pessoa de França, D. Sc.
EQ/UFRJ (Presidente da banca).

Fernando Jorge Santos de Oliveira, D. Sc.
PETROBRAS.

Francisca Ferreira do Rosário, D. Sc.
CENPES /PETROBRAS.

Severino Leopoldino Urtiga Filho, D. Sc.
UFPE.

Eduardo da Silva Torres, D. Sc.
ANP.

Maria Leticia Murta Valle, D. Sc.
EQ/UFRJ.

Andréa Medeiros Salgado, D. Sc.
EQ/UFRJ.

Rio de Janeiro, 24 de Abril de 2012.

Este trabalho é dedicado a todas as mulheres da minha vida, em especial, as minhas mães (Célia e Keila).

## AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores Francisca Pessoa de França e Fernando Jorge de Oliveira por acreditarem na minha capacidade.

Aos meus ex-chefes do Instituto de Tecnologia de Pernambuco - ITEP - OS, Fátima Brayner, Siciônia Costa, Frederico Montenegro, Márcia Lira, Sônia Valéria, Claudia Escobar, Ana Arnaud, Paula Regina e Sandra Leuthier. Agradeço pelo incentivo e apoio financeiro no desenvolvimento deste trabalho.

Às minhas mães, Célia e Keila por toda a força, apoio e estímulo durante todos os anos da minha existência. Serão sempre o meu porto seguro nos momentos de felicidade e aflições.

Às minhas irmãs Denise, Selma, Fabiana, Lindsay e Ashley. Agradeço pelo carinho, amizade e paciência.

Aos demais membros da minha família, tios, tias, primos, primas, cunhados, sobrinhos e agregados. Agradeço pelo carinho.

À Professora Glícia Calazans, minha amiga e mestre. Sua contribuição à minha formação acadêmica foi fundamental para finalizar esse projeto.

Ao Professor Severino L. Urtiga Filho, meu tutor, parceiro e amigo no desenvolvimento desta tese. Agradeço por sua valiosa contribuição na realização deste trabalho.

À Professora Alice G. A. Lima. Agradeço a sua contribuição para realização deste trabalho.

À Nina que me acolheu em sua casa na Ilha de Itaoca, São Gonçalo-RJ, em Junho de 2006, no início desse projeto.

À minha nova amiga, Kássia Cavalcante, meu agradecimento especial, pelo acolhimento, amizade, carinho e confiança enquanto vivi na sua casa no Leblon no primeiro semestre de 2007 e nos anos seguintes.

À Viena e Valdir que me acolheram em sua casa em Duque de Caxias-RJ, em setembro de 2007, no início desse projeto.

Ao grande amigo Diniz Ramos de Lima Júnior, agradeço pela valiosa contribuição neste trabalho e por sua paciência a mim dedicada.

Aos Professores do Departamento de Antibióticos, Ana Maria, Glícia Calazans, Márcia, Magaly, Fátima, Carlos Edison, Silene, Maria do Carmo, Eulália e José Otamar. Agradeço pelo incentivo profissional ao longo desses anos.

À Silvania Oliveira, Salatiel, Walesca e Mário Felipe “in memória”. Agradeço a amizade dedicada, pois sempre será uma referência na minha existência.

Aos amigos, Maurício, Eden, Ernando, Claudia Maranhão, Ivana Felícia, Paula Regina, Janaína, Glaucia Lima, Cynthia Coimbra, Genilda Oliveira, Léia Lopes, Maria Tereza, Rosany, Geysa, Edson, Adriana Lopes, Silvio, Carolina, Érika, Amanda, Márcia Lima, Kedma Cavalcante, Hélida, Ivone Falcão, Helena Falcão, Maria Padilha, José Tavares,Vitor Lúcio e Emerson Padilha. Agradeço pela motivação e amizade.

Aos novos amigos, Léo, Andrea, Danielle, Augusto, Rogério, Gleyce, Fátima, Emílio, Silvia, Sara Horácio, Magda Rosângela e Carlos. Agradeço pela motivação e amizade.

Aos meus companheiros de trabalho e amigos do Laboratório de Microbiologia de Petróleo, sala E-109, da Escola de Química, UFRJ. Agradeço o companheirismo e a cumplicidade: Aike Costa, Diogo Simas, Rafael Bittencourt, Leonardo Jordão, Flávia Padilha, Kally Souza, Paulinho e Ulrich.

À amiga e confidente Teresa Cristina do Nascimento pelos bons momentos compartilhados nos corredores, salas de aula e laboratórios da Escola de Química - UFRJ.

Ao professor da Escola de Química, Ney Pereira Jr. Agradeço pelo incentivo no início deste trabalho.

Ao CETENE, nas pessoas de Josi e Francisco. Agradeço pela preparação das amostras e a realização das análises de microscopia eletrônica de varredura - MEV.

Ao técnico Valdomiro da oficina mecânica do Departamento de Física - UFPE. Agradeço pelo jateamento dos corpos de prova.

Ao Dr. Osmar Baraúna-ITEP-OS, pela valiosa contribuição nas análises e interpretação dos DRX.

À central analítica do DQF-UFPE, na pessoa de Ricardo pela realização de algumas análises cromatográficas.

Aos meus eternos professores da FAFIRE, Virgínia Zaia, Socorro Duarte, Antônio Travassos e Irmã Maria José. Agradeço pelo incentivo profissional e carinho.

A Deus por ter me permitindo viver todos os momentos ao longo desses anos, porque na vida vale tudo.

“Porque Deus amou ao mundo de tal maneira que deu seu filho unigênito, para que todo que nele crê não pereça, mas tenha vida eterna” João 3:16.

# RESUMO

Melo, Ivanilda Ramos de. Formação de Biofilmes e Biocorrosão em Aço Carbono AISI 1020 Exposto em Sistema Aquoso Contendo Diferentes Teores de Diesel/Biodiesel. Rio de Janeiro 2012. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2012.

O óleo diesel B é obtido a partir de misturas, em diferentes proporções de óleo diesel A e ésteres de óleos vegetais. Os processos de corrosão e degradação de combustíveis podem ser induzidos e acelerados pela presença de água e micro-organismos. O objetivo deste trabalho foi estudar a formação de biofilmes em sistema dinâmico usando como fluido circulante água do mar, água doce e água doce acrescida de diesel/biodiesel dos tipos B3 e B5 nas concentrações de 10, 30, 60 e 80%. Foi avaliado também a biodegrabilidade do óleo diesel presente nas misturas e seu efeito corrosivo na superfície metálica do aço carbono AISI 1020. Utilizou-se um sistema de *Looping* fechado construído em aço inox 316L. O processo foi conduzido por período de 15 dias, sendo monitorado através da quantificação de micro-organismos planctônicos, sésseis e perda de massa dos cupons metálicos, difração de Raios-X, microscopia eletrônica de varredura - análise de espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (MEV-EDS) e cromatografia gasosa. Os resultados demonstraram que houve variação da microbiota ao longo dos experimentos. Nos biofilmes foram quantificadas concentrações significativas de bactérias aeróbias, anaeróbias, ferrobactérias, *Pseudomonas aeruginosa* e bactérias redutoras sulfato (BRS). A água do mar mostrou-se corrosiva para aço carbono AISI 1020, em todas as vazões estudadas com dias 15 de processo. Nos experimentos com B3 as taxas de corrosão diminuíram com o aumento da concentração do combustível. Nos experimentos com B5 verificou-se que a adição de 5% de biodiesel ao diesel contribuiu positivamente para a diminuição das taxas de corrosão que ficaram abaixo de 0,21mm/ano com 15 dias de processo. Os principais produtos de corrosão detectados por difração de Raios-X no B3 foram as várias formas de FeOOH, Magnetita e todas formas de $Fe_xS_y$. A dissolução do ferro nos sistemas conduzidos com B5 detectada pela análise de MEV-EDS evidenciou a formação de biofilmes e produtos de corrosão. Os hidrocarbonetos alifáticos presentes na mistura diesel/biodiesel B3 foram biodegradados em meio aquoso. A remoção dos HPAs do B5 por micro-organismos planctônicos e sésseis foi em torno de 50% e dos BTEX foi em torno de 40% com 15 dias de processo.

Palavras-chaves: Biofilmes. Aço carbono. Misturas de diesel/biodiesel (B3 e B5). Biocorrosão. Biodegradação.

## ABSTRACT

Melo, Ivanilda Ramos de. Formation of Biofilms and Biocorrosion in AISI 1020 Carbon Steel Exposed in an Aqueous System Containing Different Concentrations of a Diesel/Biodiesel. Rio de Janeiro 2012. Thesis (Doctorate in Chemical and Biochemical Processes Technology) - Chemistry School, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2012.

Oil diesel B is obtained from mixtures, in different proportions of diesel A and esters from vegetable oils. The fuel corrosion and degradation processes can be induced and accelerated by the presence of water and microorganisms. The goal of this study was to study biofilm formation in a dynamic system using as circling fluid sea water, sweet water and sweet water added to diesel/biodiesel of types B3 and B5, in concentrations of 10, 30, 60 and 80%, the biodegradability of diesel oil present in the mixtures and its corrosive effects in the metallic surface of AISI 1020 carbon steel were also evaluated. A closed looping system built in 316L stainless steel was used. The process was conducted by a period of 15 days, being monitored through the quantification of sessile, planktonic microorganisms and loss of mass of the metallic coupons, X-Ray diffraction, scanning electron microscopy - analysis of the spectroscopy of the dispersive energy of X-Rays (MEV-EDS) and gaseous chromatography. The results have shown that there was variation of the microflora during the experiments. In biofilms, significant concentrations of aerobic and anaerobic bacteria, iron oxidizing bacteria, *Pseudomonas aeruginosa* and sulfate-reducing bacteria (SRB) were quantified. Sea water was corrosive for AISI 1020 carbon steel, in all flow rates studied in 15 days of process. In the experiments with B3 the corrosion rates have diminished with the increase in the fuel concentration. In the experiments with B5, it was seen that the addition of 5% of biodiesel to diesel contributes positively for the reduction of the corrosion rates that were below 0.21mm/year with 15 days of process. The main corrosion products detected by X-Ray diffraction in B3 were various forms of FeOOH, Magnetite and all forms of $Fe_xS_y$. The iron dissolution in the systems conducted with B5 detected by the analysis of MEV-EDS has evidenced the formation of biofilms and corrosion products. The aliphatic hydrocarbons of diesel oil that are constituents of B3 were biodegraded in an aqueous media conducted in dynamic systems. The removal of the HPAs from the B5 by sessile and planktonic microorganisms was of approximately 50% and of the BTEX was of around 40% in 15 days of process.

Keywords: Biofilms. Carbon steel. Diesel/biodiesel mixtures (B3 and B5). Biocorrosion. Biodegradation.

# LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 - Matérias - primas utilizadas na produção de biodiesel no Brasil. ..... 10

Figura 2 - Reação geral de transesterificação, onde R representa a cadeia carbônica dos ácidos graxos e R', a cadeia carbônica do álcool reagente. ..... 11

Figura 3 - Esquema básico para a produção de biodiesel. ..... 12

Figura 4 - Produção de biodiesel acumulada no Brasil. ..... 13

Figura 5 - Estruturas químicas dos 16 HPA prioritários segundo USEPA. ..... 16

Figura 6 - Etapas envolvidas na formação de biofilmes - fatores físicos e biológicos. ..... 22

Figura 7 - Esquema do *Looping*. 1 - Reservatório com água do mar; 2 - Suporte para os corpos-de-prova; 3 - Termopar, 4 - Medidor de vazão; 5 - Medidor de pressão; 6 - Bomba centrífuga. ..... 31

Figura 8 - Esquema do *Looping*. 2 - Reservatório com água do mar; 2 - Suporte para os corpos-de-prova; 3 - Termopar, 4 - Medidor de vazão; 5 - Medidor de pressão; 6 - Bomba centrífuga. ..... 31

Figura 9 - Fotografia do *Looping*. 1. ..... 32

Figura 10 - Fotografia A - vista geral do *Looping*. 2; Fotografia B - Tanque do *Looping* 2.... 32

Figura 11 - Fotografias: C e D - Detalhes da câmara e inserção dos corpos-de-prova. ..... 33

Figura 12 - Efeito de diferentes vazões na concentração de micro-organismos sésseis em ligas de aço carbono AISI 1020 ao final de 15 dias de processo. ..... 44

Figura 13 - Efeito de diferentes vazões na taxa de corrosão média por perda de massa ao final de 15 dias. ..... 46

Figura 14 - Quantificação dos micro-organismos sésseis em ligas de aço carbono AISI 1020 ao final de 15 dias sob a vazão 1L/s em água doce e misturas de água doce + B3 nas concentrações de 10, 30 e 60%..... 49

Figura 15 - Variação da taxa de corrosão de ligas de aço carbono AISI 1020 expostas em misturas de água doce+B3..... 51

Figura 16 - Difratograma de Raios-X obtidos dos produtos de corrosão provenientes do corpo-de-prova submetido a um fluido de água doce, após um período de 15 dias. A ordenada indica

a intensidade dos picos em contagem por segundo (cps) e na abscissa os números abaixo da identificação indicam a distância “d” (em Angstrons) características de cada fase cristalina..... ..... 53

Figura 17 - Difratograma de Raios-X obtidos dos produtos de corrosão provenientes do corpo-de-prova submetido a um fluido de água doce + 10% de diesel/biodiesel, após um período de 15 dias. A ordenada indica a intensidade dos picos em contagem por segundo (cps) e na abscissa os números abaixo da identificação indicam a distância “d” (em Angstrons) características de cada fase cristalina. ..... 54

Figura 18 - Difratograma de Raios-X obtidos dos produtos de corrosão provenientes do corpo-de-prova submetido a um fluido de água doce + 30% de diesel/biodiesel, após um período de 15 dias. A ordenada indica a intensidade dos picos em contagem por segundo (cps) e na abscissa os números abaixo da identificação indicam a distância “d” (em Angstrons) características de cada fase. ..... 55

Figura 19 - Análise por MEV da formação de biofilme em aço carbono AISI 1020, exposto a uma mistura de água doce + 10% de B3 por um período de 15dias. Aumento de 6000x..... 56

Figura 20 - Análise por MEV da formação de biofilme em aço carbono AISI 1020, exposto a uma mistura de água doce + 30% de B3 por um período de 15 dias. Aumento de 6000x..... 56

Figura 21 - Análise por MEV da formação de biofilme em aço carbono AISI 1020, exposto a uma mistura de água doce + 60% de B3 por um período de 15 dias. Aumento de 2500x..... 57

Figura 22 - Cromatograma obtido da mistura de água doce + 10% de B3 antes de iniciar o experimento. A ordenada expressa a intensidade em quantidade de íons e a abscissa o tempo de retenção em minutos ..... 58

Figura 23 - Cromatograma obtido da mistura de água doce + 10% de B3 após 15 dias. Aordenada expressa a intensidade em quantidade de íons e a abscissa o tempo de retenção em minutos ..... 58

Figura 24 - Cromatograma obtido da mistura de água doce + 30% de B3 antes de iniciar o experimento. A ordenada expressa a intensidade em quantidade de íons e a abscissa o tempo de retenção em minutos ..... 59

Figura 25 - Cromatograma obtido da mistura de água doce + 30% de B3 após 15 dias. A ordenada expressa a intensidade em quantidade de íons e a abscissa o tempo de retenção em minutos ..... 59

Figura 26 - Cromatograma obtido da mistura de água doce + 60% de B3 antes de iniciar o experimento. A ordenada expressa a intensidade em quantidade de íons e a abscissa o tempo de retenção em minutos. ..... 60

Figura 27 - Cromatograma obtido da mistura de água doce + 60% de B3 após 15 dias. A ordenada expressa a intensidade em quantidade de íons e a abscissa o tempo de retenção em minutos ..... 60

Figura 28 - Quantificação dos micro-organismos sésseis em ligas de aço carbono AISI 1020 ao final de 15 dias sob a vazão de 1L/s em água e misturas de água doce + B5..... 63

Figura 29 - Variação da taxa de corrosão de ligas de aço carbono AISI 1020 expostas em misturas de água doce + B5..... 64

Figura 30 - Espectro geral (EDS) da superfície do aço carbono AISI 1020, antes de iniciar o experimento. A ordenada expressa a contagem acumulada em determinado tempo e a abscissa a energia em keV ..... 66

Figura 31 - Espectro geral (EDS) dos produtos de corrosão formados na superfície do aço carbono AISI 1020 na mistura água + 10% de B5 ao final de 15 dias. A ordenada expressa a contagem acumulada em determinado tempo e a abscissa a energia em keV..... 67

Figura 32 - Espectro geral (EDS) dos produtos de corrosão formados na superfície do aço carbono AISI 1020 na mistura água + 30% de B5 ao final de 15 dias. A ordenada expressa a contagem acumulada em determinado tempo e abscissa a energia em keV ..... 67

Figura 33 - Espectro geral (EDS) dos produtos de corrosão formados na superfície do aço carbono AISI 1020 na mistura água + 60% de B5 ao final de 15 dias. A ordenada expressa a contagem acumulada em determinado tempo e a abscissa a energia em keV..... 68

Figura 34 - Espectro geral (EDS) dos produtos de corrosão formados na superfície do aço carbono AISI 1020 na mistura água + 80% de B5 ao final de 15 dias. A ordenada expressa a contagem acumulada em determinado tempo e a abscissa a energia em keV..... 68

Figura 35 - Análise por MEV da formação de biofilme em aço carbono AISI 1020 exposto a uma mistura de água doce + 10% de B5 ao final de 15 dias. Aumento de 12000x.. ..... 69

Figura 36 - Análise por MEV da formação de biofilme em aço carbono AISI 1020 exposto a uma mistura de água doce + 30% de B5 ao final de 15 dias. Aumento de 30000x.. ..... 69

Figura 37 - Análise por MEV da formação de biofilme em aço carbono AISI 1020 exposto a uma mistura de água doce + 60% de B5 ao final de 15 dias. Aumento de 50000x.. ..... 70

Figura 38 - Análise por MEV da formação de biofilme em aço carbono AISI 1020 exposto a uma mistura de água doce + 80% de B5 ao final de 15 dias. Aumento de 6000x.. ..... 70

# LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 - Análise físico-química da água do mar ..... 29

Tabela 2 - Análise físico-química da água doce na estação de tratamento da UFPE..... 30

Tabela 3 - Análise físico-química da água doce do Centro de Tecnologia da UFPE-CTG ..... 30

Tabela 4 - Análises microbiológicas da água do mar antes de iniciar o experimento..... 42

Tabela 5 - Efeito de diferentes vazões na concentração de micro-organismos planctônicos ao final de 15 dias..... 43

Tabela 6 - Análises microbiológicas dos micro-organismos planctônicos da água doce e das mistura água + B3 antes de iniciar o experimento ..... 47

Tabela 7 - Análises microbiológicas dos micro-organismos planctônicos da água doce e das misturas água + B5 antes de iniciar o experimento ..... 62

Tabela 8 - Redução dos HPAs da mistura água + 10% de B5 no efluente líquido (µg/L) com de 15 dias de processo ..... 73

Tabela 9 - Redução dos HPAs da mistura água + 30% de B5 no efluente líquido (µg/L) com de 15 dias de processo ..... 74

Tabela 10 - Redução dos HPAs da mistura água + 60% de B5 no efluente líquido (µg/L) com de 15 dias de processo ..... 74

Tabela 11 - Redução do BTEX da mistura água + 10% de B5 no efluente líquido ao (µg/L) com de 15 dias de processo ..... 74

Tabela 12 - Redução do BTEX da mistura água + 30% de B5 no efluente líquido (µg/L) com de 15 dias de processo ..... 75

Tabela 13 - Redução do BTEX da mistura água + 60% de B5 no efluente líquido (µg/L) com de 15 dias de processo ..... 75

Tabela 14 - Redução do TPH em todas as misturas de água + B5 no efluente líquido (µg/L) com de 15 dias de processo ..... 75

# LISTA DE ABREVIATURAS

AISI - *American Iron and Steel Institute*

ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

BRS - Bactérias redutoras sulfato

BTEX - Hidrocarbonetos monoaromáticos: benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos

CIM - Corrosão microbiologicamente induzida

$cm^2$ - centímetro quadrado.

$CO_2$ - Dióxido de carbono

Cps - Intensidade dos picos em contagem por Segundo.

CTG - Centro de Tecnologia e Geociências

Diesel/biodiesel B3 - Proporção volumétrica de diesel/biodiesel (97:3)

Diesel/biodiesel B5 - Proporção volumétrica de diesel/biodiesel (95:5)

DNA - Ácido desoxirribonucleico

DRX - Difração de Raios X

EDS - Energia dispersiva de Raios X

HPA - Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

IC - Índice de cetano

KOH - Hidróxido de potássio

$K_{w/o}$ - Coeficiente de partição em água/octanol

L/s - Litros por segundo

MCNR - Mistura de compostos não resolvidos

MEV - Microscopia eletrônica de varredura.

mg/L - Miligrama por litro

mm/ano - Milímetro por ano

mS/cm - microSiemens por centímetro

NaOH - Hidróxido de sódio

NC - número de cetano

NMP/mL - Número mais provável por mililitro

PROCONVE - Programa de Controle de Poluição do Ar por Veículos Automotores

RNA - Ácido ribonucleico

TIC - Intensidade em quantidade de íons.

TPH - Hidrocarbonetos totais do petróleo

UFC/mL - Unidade formadora de colônia por mililitro

UFPE - Universidade Federal de Pernambuco

UFRJ - Universidade Federal do Rio de Janeiro

USEPA - *United States Environmental Protection Agency*

uT - Unidade de turbidez

nm - nanômetro

Cu - Cobre

kv - kilovolte

mA - miliamper

M - Molaridade

GC/MS - Cromatografia gasosa acoplada espectrometria de massas.

m/z - Relação de massa e carga

# SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO ..... 1

CAPÍTULO 2 - OBJETIVOS ..... 4

2.1 - Objetivo geral ..... 4

2.2 - Objetivos específicos ..... 4

CAPÍTULO 3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA ..... 5

3.1 - Fluidos utilizados no estudo ..... 5

3.2 - Corrosão em materiais metálicos em meio aquoso ..... 17

3.3 - Micro-organismos envolvidos na formação de biofilmes e nos processos de biocorrosão ..... 20

3.4 - Prevenção e controle da corrosão ..... 27

CAPITULO 4 - MATERIAIS E MÉTODOS ..... 28

4.1 - Corpos-de-prova ..... 28

4.2 - Fluidos utilizados nos experimentos ..... 28

4.3 - Equipamentos ..... 31

4.4 - Experimentos ..... 33

4.5 - Análises quantitativas ..... 35

CAPÍTULO 5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO ..... 42

5.1 - Experimentos usando água do mar como fluido circulante ..... 42

5.2 - Experimentos usando como fluido circulante água doce adicionada de B3 ..... 47

5.3 - Experimentos usando como fluido circulante água doce adicionada de B5 ..... 61

CAPÍTULO 6 - CONCLUSÕES ..... 76

CAPÍTULO 7 - SUGESTÕES ..... 77

CAPÍTULO 8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... 78

CAPÍTULO 9 - ANEXOS ..... 87

# CAPÍTULO 1

# INTRODUÇÃO

A importância de se estudar os processos de biocorrosão, que é um problema persistente em todo o mundo, e os diversos parâmetros que influenciam a formação de biofilmes em sistemas industriais, está relacionada aos seus efeitos danosos aos materiais e a biodeterioração de produtos.

A biocorrosão constitui um problema para os diversos segmentos industriais, tais como, a indústria de petróleo, gás e energia (sistemas de resfriamento, tanques, dutos, cascos de embarcações, etc.), a construção civil (redes de distribuição de água, pontes e outras estruturas), a medicina e também a odontologia, causando danos a estruturas (cateteres e próteses). Estudos intensivos têm sido realizados para explicar os mecanismos que governam o processo de biocorrosão (VIVEROS, A. P. et al, 2006).

Atualmente, a preservação do meio ambiente é um fator decisivo no desenvolvimento de novas atividades econômicas. O mundo caminha para uma adoção crescente de empresas verdes e sustentáveis. A produção de biocombustíveis surge dentro deste novo cenário porque apresenta vantagens econômicas e ambientais em relação aos combustíveis derivados do petróleo. Contudo seu armazenamento e transporte também estão expostos à deposição de material orgânico/inorgânico e à colonização por micro-organismos, suscitando a necessidade de estudos para avaliar a sua ação corrosiva.

O Brasil tem uma vasta experiência em estudos com etanol combustível, porém são poucos os estudos sobre os aspectos corrosivos do biodiesel e suas misturas. O biodiesel apresenta taxas de corrosão desprezíveis, mas na presença de água torna-se corrosivo a materiais metálicos e poliméricos (AMBOZIM, P. R. A. et al, 2009).

Materiais não metálicos também estão sujeitos à colonização por micro-organismos e ao processo de biodeterioração, onde fatores ambientais estão envolvidos. Alguns autores também consideram esses fenômenos como sendo processos de corrosão (VIDELA, H. A. 2003).

Vários micro-organismos estão envolvidos no processo de deterioração de superfícies metálicas sendo as BRS (bactérias redutoras de sulfato) apontadas como o principal grupo

responsável pelos casos mais graves de biocorrosão (BEECH, I. B. e SUNNER, J. 2004; VIDELA, H. A. 2002; VIERA M. R. et al, 1999).

As bactérias são consideradas colonizadoras primárias de superfícies inanimadas em ambientes naturais e sintéticos. A maioria das investigações de corrosão influenciada microbiologicamente está direcionada para o comportamento do biofilme de culturas puras ou mistas na corrosão de superfícies de ferro, cobre alumínio e outras ligas (BEECH, I. B. e SUNNER, J. 2004). Vários micro-organismos participam do processo, destacando-se as bactérias produtoras de ácidos, precipitantes de ferro, oxidantes de enxofre, anaeróbias, fungos e algas. Convém destacar que as bactérias produtoras de polímeros facilitam a adesão de outros micro-organismos e o espessamento do biofilme.

Devido à complexidade dos fluidos, biodiversidade e diversidade de materiais, o processo de biocorrosão ainda não está totalmente elucidado. Dessa forma, estudos são executados a fim de minimizar danos causados aos materiais. Pesquisas recentes estão direcionadas para o entendimento das características da superfície celular dos micro-organismos e a sua relação com a corrosão de metais (XAVIER, J. B. et al, 2003).

Destacam-se, ainda, pesquisas realizadas sobre o efeito de diversas condições físico-químicas na formação de biofilme como, por exemplo: salinidade, concentração de oxigênio dissolvido, concentração de cromo, velocidade de fluxo, efeito da hidrofobicidade, de forças iônicas, forças eletrotásticas, nutrientes, pH, temperatura e introdução de $CO_2$ no fluido (SHENG, X; TING, Y. P. e PEHKONEN, S. O. 2008; De FRANÇA, F. P; DIAS, D. S. B; MELO, I. R; LUTTERBACH, M. T. S. 2008; CRAVO, W. B. JR. e De FRANÇA, F. P. 2004; TORRES, E. S. e De FRANÇA, F. P. 2002; De FRANÇA, F. P. e CRAVO, W. B. JR. 2000; De FRANÇA, F. P; FERREIRA, C. A. e LUTTERBACH, M. T. S. 2000).

Diante da elevada demanda por fontes energéticas alternativas, e da viabilidade do uso do biodiesel e de suas misturas com diesel como combustível, torna-se relevante pesquisas voltadas ao entendimento dos processos de corrosão e biocorrosão de metais expostos a misturas de diesel/biodiesel, que vem sendo comumente utilizado no país, bem como o processo de degradação destes compostos quando em contato com águas e micro-organismos.

O objetivo desta tese foi estudar a formação de biofilmes e suas consequências sobre aço carbono AISI 1020 exposto em sistema dinâmico contendo diferentes teores da mistura

diesel/biodiesel (B3 e B5). Este novo combustível apresenta propriedades importantes, como a capacidade de minimizar emissões de particulados totais de motores, por conter em sua mistura matérias-primas renováveis reduzindo a nossa dependência nacional sobre os derivados do petróleo e preservando suas últimas reservas.

Por outro lado, ele é suscetível a vários problemas de contaminação microbiana que afetam a estabilidade do produto e aceleram os processos de corrosão/biocorrosão durante a estocagem e transporte. Na literatura não há muitos estudos relacionados ao tema desta tese e isso ressaltou a importância desta pesquisa.

Os estudos foram desenvolvidos no Laboratório de Microbiologia de Petróleo da Escola de Química da UFRJ em parceria com o Laboratório de Materiais Compósitos de Integridade Estrutural do Departamento de Engenharia Mecânica da UFPE, visando avaliar a estabilidade de diversos materiais, principalmente os metálicos que são usados em tanques de armazenamento e veículos de transporte de óleo diesel, biodiesel ou suas misturas e o processo de biodegradação dos combustíveis quando em contato com água.

# CAPÍTULO 2

# OBJETIVOS

## 2.1 - OBJETIVO GERAL:

O trabalho teve como objetivo geral, estudar a formação de biofilmes e suas consequências sobre a superfície de aço carbono exposta, em sistema dinâmico, a fluxos aquosos contendo diferentes teores da mistura comercial de diesel/biodiesel (B3 e B5).

## 2.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Quantificar grupos microbianos planctônicos na água do mar de Suape, situada em Ipojuca - PE e na água doce coletada na rede de distribuição da estação de tratamento da UFPE.
- Verificar a formação de biofilmes e biocorrosão sobre o aço carbono AISI 1020 expostos a fluxos estritamente aquosos em condições dinâmicas e diferentes vazões utilizando como fluido água do mar.
- Estudar a formação de biofilmes e a ocorrência de biocorrosão sobre o aço carbono AISI 1020, em condições dinâmicas em sistemas com água doce pura e água doce contendo 10, 30 e 60% de B3 e 10, 30, 60 e 80% de B5.
- Avaliar ao longo dos experimentos a biodegrabilidade do óleo diesel presente nas misturas (B3) e (B5).

# CAPÍTULO 3

# REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

## 3.1-FLUIDOS UTILIZADOS NO ESTUDO

### 3.1.1 - Água do mar e água doce

A água do mar é uma solução bem complexa contendo vários sais, tais como, cloretos, sulfatos e carbonatos. As propriedades corrosivas da água do mar estão diretamente relacionadas à concentração desses sais. A salinidade da água do mar é praticamente constante em oceanos, mas pode variar em mares interiores dependendo do país ou região (GENTIL, V. 2011).

Diversos autores relatam em seus estudos os efeitos da água do mar na corrosão visando determinar os efeitos dessa mistura, como eletrólito, no comportamento do processo corrosivo dos materiais em função da temperatura, velocidade de fluxo e desaeração ou estagnação. Essas alterações simulam as condições encontradas em determinados segmentos de plantas industriais. A maioria dos estudos tem por objetivo testar materiais que resistam à corrosão em água salgada (DUAN, J. et al, 2008; OLIVEIRA, S. H. et al, 2008; LITTLE, B. J. et al, 2008).

A água doce inclui todas as águas naturais não salinas, poluídas ou não, encontradas em córregos, rios, lagos e lagoas. Nesta categoria também são incluídas águas oriundas de precipitações como chuva e neve, água de poços, nascentes e águas tratadas (De FRANÇA, F. P. e CRAVO, W. B. JR. 2000). A água pode conter impurezas, como: sais, ácidos, bases, gases dissolvidos, material em suspensão e micro-organismos. Essas impurezas podem acelerar ou retardar a velocidade do processo corrosivo (GENTIL,V. 2011).

### 3.1.2 - Óleo diesel

O diesel é uma mistura complexa, derivada do petróleo, constituído basicamente por parafinas, oleofinas, aromáticos, nalftênicos, enxofre, nitrogênio, metais e oxigênio. É obtido por destilação direta, na faixa de 100-400°C (VIEIRA, P. A. et al, 2009).

É utilizado em motores do ciclo diesel, tais como: automóveis, furgões, ônibus, caminhões, pequenas embarcações marítimas, máquinas de grande porte, locomotivas, navios e geradores elétricos. Em função da aplicação, o óleo diesel pode apresentar características e cuidados diferenciados.

O óleo diesel é produzido a partir do refino do petróleo e formulado pela mistura de diversas correntes como querosene, gasóleos, nafta pesada e diesel leve e pesado provenientes das diversas etapas do processamento do óleo bruto.

O óleo diesel pode ser classificado, de acordo com sua aplicação. A Resolução ANP n°. 65 de 12 de dezembro de 2011 especifica o óleo diesel de uso rodoviário.

O óleo diesel rodoviário classifica-se em:

Óleo diesel A - é o óleo diesel utilizado em motores do ciclo a diesel (ônibus, caminhões, caretas, veículos utilitários e instalações de aquecimento de pequeno porte), de uso rodoviário sem adição de biodiesel.

Óleo diesel B - é o óleo diesel A adicionado de biodiesel no teor estabelecido pela legislação vigente.

Os óleos tipo A e B deverão apresentar as seguintes nomenclaturas, conforme o teor máximo de enxofre:

1 - Óleo diesel A S10 e B S10 - teor máximo de enxofre de 10mg/kg.

2 - Óleo diesel A S50 e B S50 - teor máximo de enxofre de 50mg/kg.

3 - Óleo diesel A S500 e B S500 - teor máximo de enxofre de 500mg/kg.

4 - Óleo diesel A S1800 e B S1800 - teor máximo de enxofre de 1800mg/kg.

Óleo diesel aditivado - o extra diesel aditivado é um óleo que contém um pacote multifuncional de aditivos com objetivo de manter limpo o sistema de alimentação de

combustível, reduzir o desgaste dos bicos injetores, a formação de sedimentos e de depósitos, proporcionar melhor separação da água eventualmente presente no diesel e conferir maior proteção anticorrosiva a todo o sistema de alimentação.

### 3.1.3 - Características do óleo diesel

O óleo diesel é produzido de modo a atender os diversos requisitos em sua utilização em motores e tem algumas características controladas para que os veículos tenham desempenho adequado, com emissões de acordo com as normas estabelecidas pelos órgãos ambientais (BRAUN, S. 2003). A seguir são listadas e descritas as principais características.

***Qualidade de Ignição***

Diferentemente dos motores à gasolina ou etanol que aspiram uma mistura ar/combustível e têm uma ignição por centelha (velas de ignição), nos motores a diesel o início da combustão se dá por auto-ignição do combustível. Nesses motores a diesel, o ar aspirado para o interior do cilindro é comprimido pelo pistão, de forma a elevar a temperatura.

O combustível é injetado diretamente na câmara de combustão, imediatamente antes do instante em que o processo de combustão deva ser iniciado. O tempo decorrido entre o início da injeção e o início da combustão é chamado de atraso de ignição. Este atraso é conseqüência do tempo requerido para que ocorra a pulverização, aquecimento e evaporação do combustível, a sua mistura com o ar seguido das reações químicas precursoras da combustão e finalmente da auto-ignição da mistura. Quanto menor for o atraso melhor será a qualidade de ignição do combustível. Um atraso longo provoca um acúmulo de combustível sem queimar na câmara, que quando entra em auto-ignição, já fora do ponto ideal, provoca aumento brusco de pressão e um forte ruído característico, chamado de batida diesel.

A qualidade de ignição do diesel pode ser medida pelo seu número de cetano (NC) ou calculado pelo índice de cetano (IC). O número de cetano é obtido através de um ensaio padronizado do combustível em um motor mono-cilíndrico, onde se compara o seu atraso de ignição em relação a um combustível padrão com número de cetano conhecido.

***Número de cetano***

O número de cetano adequado para motores diesel, em geral situa-se na faixa de 40 a 60. Valores inferiores a 40 podem causar fumaça na descarga, com aumento de consumo, perda de potência, aumento de ruído (batida). Por outro lado, se o diesel proporciona que o motor arranque com facilidade e opere satisfatoriamente, tanto em marcha lenta quanto com carga total, não se verificará ganhos significativos com o aumento do número de cetano, podendo-se até piorar o desempenho para valores muito altos.

***Viscosidade***

Dependendo do sistema de injeção dos motores diesel há uma faixa ótima de viscosidade para o combustível. O estabelecimento de uma viscosidade mínima impede vazamentos e uma viscosidade máxima previne as dificuldades com a bomba decorrente do uso de um óleo demasiado viscoso. Também a viscosidade do combustível deve ser tal que assegure perfeita lubrificação dos injetores e bomba injetora.

***Teor de Enxofre***

O petróleo contém compostos de enxofre, muito dos quais são removidos durante as operações de refino. Os óxidos de enxofre formados pela combustão do óleo diesel podem ser descarregados para a atmosfera ou se transformar em ácidos na câmara de

combustão. Com a redução gradativa do teor de enxofre no óleo diesel produzido nas refinarias, o meio ambiente é preservado, já que por um bom tempo foi vítima de descargas de gases oriundos da queima do diesel. Em 02/12/2011 ANP publicou a resolução 62, que tem o objetivo de garantir a oferta de diesel com baixo teor de enxofre (S10; S50) em todo Brasil a partir de janeiro de 2012 para veículos da fase P-7 e L-6 do Programa de Controle de Poluição do Ar por Veículos Automotores (PROCONVE). O óleo diesel (1800ppm) deverá ser eliminado do segmento rodoviário até 2013.

***Ponto de fulgor***

É a menor temperatura na qual o produto gera quantidade de vapores que se inflamam quando se dá a aplicação de uma chama, em condições controladas. Essa característica do diesel está ligada a sua inflamabilidade e serve como indicativo dos cuidados a serem tomados durante o manuseio, transporte, armazenamento e uso do produto.

### 3.1.4 - Biodiesel

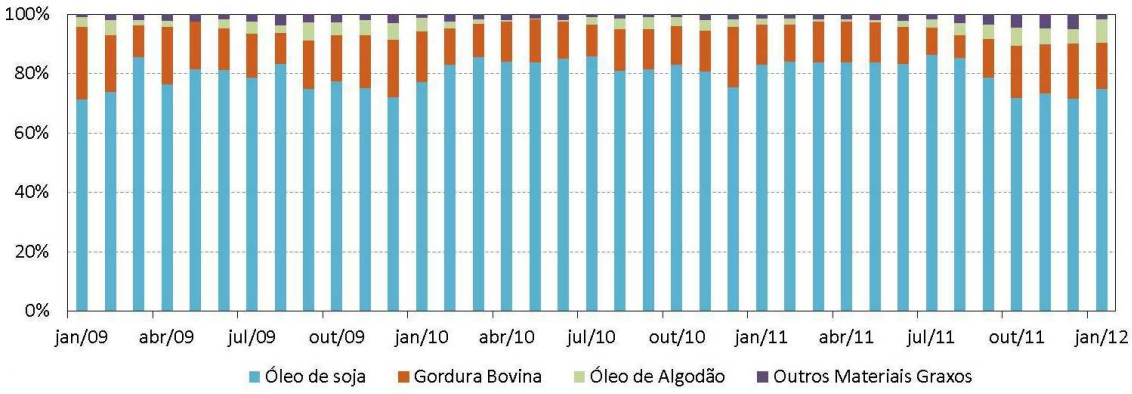
Devido à crescente preocupação com o meio ambiente e aos efeitos negativos do consumo dos derivados do petróleo, expandiu-se rapidamente a busca por combustíveis alternativos nos últimos anos. A necessidade da diminuição da dependência de combustíveis não renováveis derivados do petróleo e da diminuição da poluição causada pela combustão desses combustíveis estimulou o mundo na busca por fontes energéticas alternativas, os chamados biocombustíveis (HILL, J. et al, 2006).

O biodiesel é uma mistura de mono-alquil éster de ácidos graxos com mono-álcoóis de cadeia curta, como metanol ou etanol obtida pelos processos e transesterificação (SUAREZ, P. A. Z et al, 2007).

Ele vem apresentando um grande potencial como combustível no mundo inteiro e pode ser produzindo de uma variedade de matérias-primas. Os principais óleos são

provenientes das seguintes fontes: óleos de soja, caroço de algodão, palma, amendoim, canola, girrasol, açafrão, coco, gorduras de origem animal e óleos de descarte, obtidos de processos de frituras. Na produção Industrial do biodiesel é utilizado o óleo de soja e óleo obtido do coroço do algodão (MENG, X. 2009; SHARMA, Y. C; SINGH, B; UPADHYAY, S. N. 2008; ENCINAR, J. M. 2002).

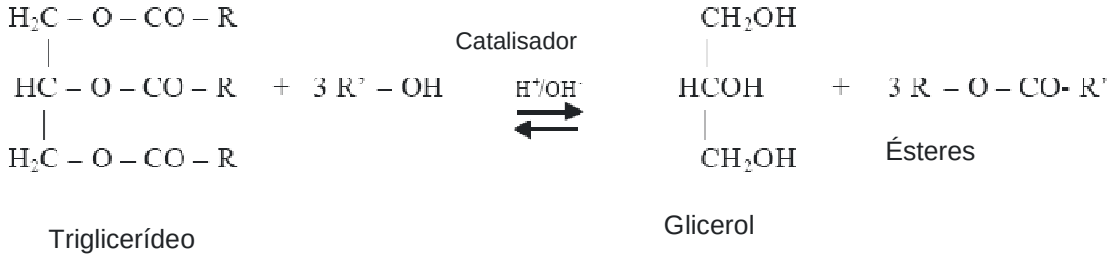
No Brasil as matérias-primas utilizadas na produção de biodiesel são a soja, a gordura bovina e o algodão. Na Figura 1 está apresentada a evolução da utilização dessas principais matérias-primas: soja (74,5%), a gordura bovina (15,6%) e o algodão (7,7%) no mês de janeiro de 2012.




Adaptado do: Boletim Mensal dos Combustíveis Renováveis - MME, 2012.

Figura 1 - Matérias - primas utilizadas na produção de biodiesel no Brasil.

O biodiesel é produzindo a partir de óleos vegetais ou gorduras de origem animal, através de uma reação de transesterificação. Nesta reação os óleos vegetais ou gordura animal reagem na presença de um catalisador ácido ou básico com um álcool metanol ou etanol, para produzir alquil ésteres correspondentes e glicerol. Na Figura 2 é apresentada a reação geral de transesterificação.



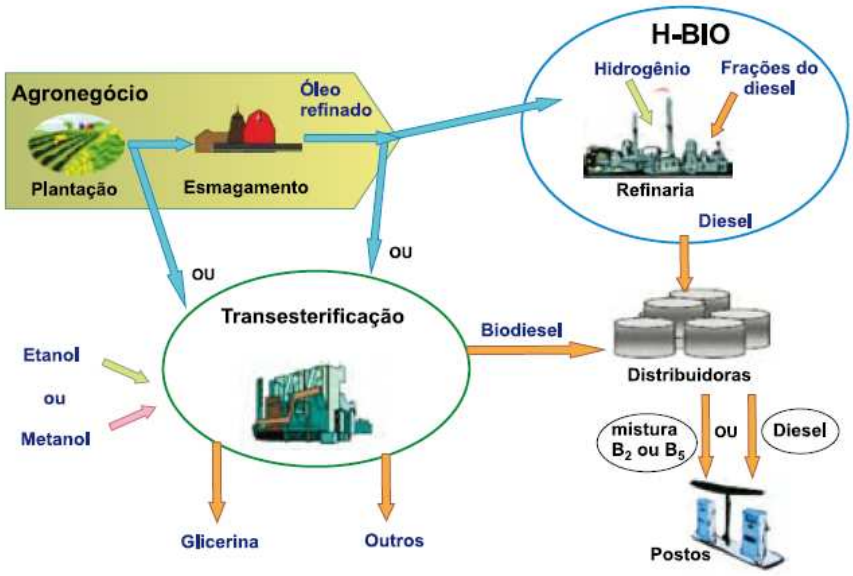

Adaptado de Knothe, G. et al, (2008)

Figura 2 - Reação geral de transesterificação, onde R representa a cadeia carbônica dos ácidos graxos e R', a cadeia carbônica do álcool reagente.

Esse processo tem sido mais adequado para a produção do biodiesel, pois a partir dele é possível diminuir problemas associados à combustão, como a baixa qualidade de ignição gerando um biocombustível semelhante ao óleo diesel derivado do petróleo (FERRARI, R. A. et al, 2005).

Os catalisadores utilizados nas reações de transesterificação podem ser ácidos ou alcalinos. A reação ocorre mais rapidamente na presença de catalisadores alcalinos e os mais eficientes são KOH e NaOH. Geralmente o catalisador ácido utilizado é ácido sulfúrico (SHARMA, Y. C. et al, 2008).

A maior parte de biodiesel produzido no mundo deriva do óleo de soja e da canola, utilizando o metanol e catalisador alcalino. Fatores como a economia, a geografia e o clima determinam o óleo vegetal com maiores chances para a produção do biocombustível. Na Figura 3 está representado um esquema básico para a produção de biodiesel no Brasil.

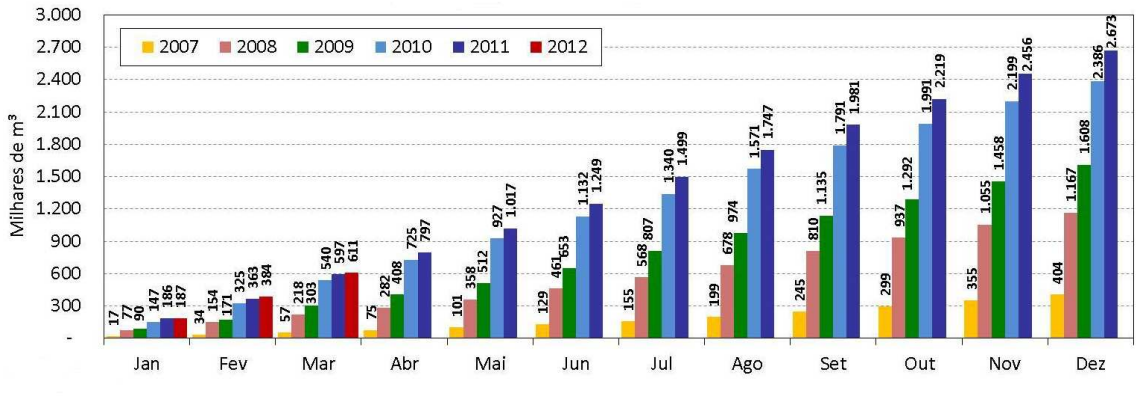



Confederação Nacional da Indústria (2007)

Figura 3 - Esquema básico para a produção de Biodiesel.

No Brasil a soja é a leguminosa utilizada para a produção de biodiesel, pois quase 90% do óleo provem dela. O etanol anidro (extraído da cana-de-açúcar) é o mais utilizado na reação de transesterificação, pois este é produzido em larga escala para ser adicionado à gasolina, além de pode ser obtido por meio de biomassas. Entretanto, também é utilizado o metanol para a produção de biodiesel no país.

A produção de biodiesel no Brasil em março de 2012 foi de 227 mil $m^3$, com base nas entregas de leilões promovidos pela ANP. No acumulado do ano, acrescido da estimativa para março a produção atingiu 611 mil $m^3$, um aumento de 2% em relação ao mesmo período do ano anterior (Figura 4). A distribuição regional da produção regional em fevereiro de 2012, apresentou os seguintes percentuais: Centro-oeste (39,8%); Sul (36%); Sudeste (15,1%); Nordeste (8,1%) e o Norte (1%).




Adaptado do: Boletim Mensal dos Combustíveis Renováveis - MME, 2012.

Figura 4 - Produção de biodiesel acumulada no Brasil.

Por ser miscível com diesel do petróleo em qualquer proporção, esta propriedade levou ao uso de misturas binárias diesel/biodiesel. Essas misturas são denominadas pela simbologia (BX): B2, B3, B20 e B100, onde, por exemplo, o B2 representa 2% de biodiesel em 98% de diesel de petróleo (KNOTHE, G. et al, 2008). No Brasil a mistura obrigatória desde janeiro de 2010 é de 5% de biodiesel para 95% de diesel (B5). Em janeiro de 2011 a ANP (Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis) publicou a Resolução ANP nº 2, que autoriza a utilização do óleo diesel B6 a B20 para uso experimental em frotas cativas e em equipamento industrial.

O biodiesel possui características que são vantajosas sobre os combustíveis fósseis, tais como, é derivado de matéria-prima renovável, biodegradável, possui um alto ponto de fulgor (o que lhe confere manuseio e armazenamento mais seguros), apresenta excelente lubricidade e ausência de enxofre e compostos aromáticos. A desvantagem é que a matéria-prima é muito cara, acidez elevada e elevada atração por água (KNOTHE, G. et al, 2008; AMBROZIN, P. R. A. et al, 2009).

### 3.1.5 - Biodegradação das misturas diesel/biodiesel

A deterioração de combustíveis e de tanques de armazenamento está relacionada à presença da água. Os combustíveis mais facilmente degradados são aqueles que apresentam hidrocarbonetos de cadeias lineares com 10 a 18 carbonos (querosene) (VIDELA, H. 2003; GENTIL, V. 2011). Combustíveis como o óleo diesel e o querosene de aviação apresentam problemas de contaminação sérios, principalmente, durante a estocagem (GAYLARDE, C. C. et al, 1999; RAUCH, M. E. et al, 2006).

O biodiesel é altamente biodegradável em ambientes aquáticos e terrestres. 90-98% do biodiesel é mineralizado entre 21-28 dias tanto em condições aeróbicas quanto anaeróbicas. Mais de 98% do biodiesel puro foi degradado após 28 dias, quando comparados aos percentuais de 50% e 56% para o diesel e a gasolina, respectivamente. Em misturas de 5% e 20% de biodiesel o tempo necessário para alcançar um percentual de biodegradação de 50% foi reduzido de 28 para 22 e 16 dias, respectivamente, em temperatura ambiente (PASQUALINO, J. C. et al, 2006). Ainda segundo os autores o aumento da concentração de biodiesel nas misturas acelerou a biodegradação devido ao co-metabolismo.

Co-metabolismo é o processo pelo qual os micro-organismos usam um segundo substrato, que é rapidamente biodegradado, como fonte de carbono ou energia para degradar o substrato mais complexo. Estudos laboratoriais são conduzidos tipicamente com substratos orgânicos isoladamente, mas os ambientes naturais e poluídos contêm uma multiplicidade de compostos que podem ser usados por um ou mais grupo de micro-organismos. Um substrato pode melhorar a velocidade de degradação de outro. As razões para este comportamento ainda são desconhecidas e poucos explorados (PASQUALINO, J. C. et al, 2006).

Lapinskiene, A. et al, (2006), em seus estudos ecos-toxicológicos em solos aerados indicaram que o biodiesel não é tóxico em concentrações até 12% (p/p), enquanto que o diesel apresenta uma toxicidade acima 3% (p/p).

Owsianiak, M. et al, (2009) também estudaram a influência de ramnolipídeos na biodegradação da mistura de diesel/biodiesel e concluíram que em concentrações entre 10-30% a presença do biossurfactante favoreceu a biodegradação das misturas.

Segundo os autores os n-alcanos, iso-alcanos, os aromáticos alquilados, naftenos, etil-alcanos, ciclo hexanos e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são degradados em presença de biodiesel em condições aeróbicas geralmente associado ao um consórcio microbiano.

Os HPAs (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos) são estruturas com dois ou mais anéis benzênicos de forma linear, angular ou agrupada. Sua degradação está relacionada ao número de anéis e a sua solubilidade em água. São compostos com potencial mutagênico e carcinogênico e, por isso, representam uma ameaça ao meio ambiente. Os 16 HPAs considerados prioritários pela Agência Americana de Proteção Ambiental dos Estados Unidos - USEPA podem ser visualizados na Figura 5.

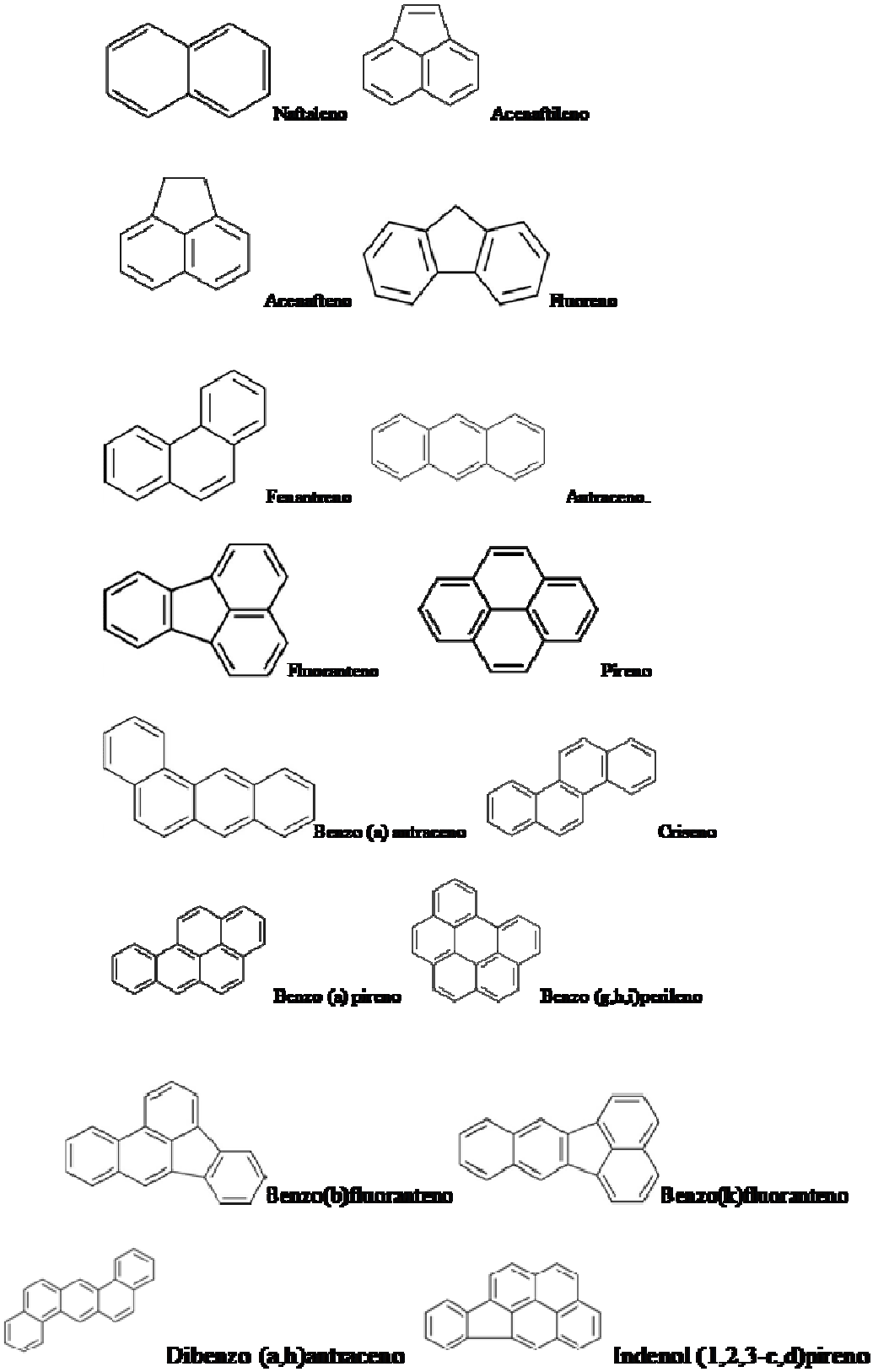



Figura 5 - Estruturas químicas dos 16 HPA prioritários segundo USEPA.

Os hidrocarbonetos monoaromáticos: benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos, os chamados BTEX também estão presentes na composição do diesel e são solúveis em água. Estes são considerados tóxicos, sendo o benzeno o mais tóxico dos BTEX, também são substâncias carcinogênicas e podem ter efeitos neurotóxicos e/ou mutagênicos (FERREIRA, S. L. et al, 2008).

O parâmetro de TPH (hidrocarbonetos totais do petróleo) é bastante utilizado para medir o progresso de remediação em áreas contaminadas Como há diversas substâncias químicas presentes no petróleo e seus derivados, não é muito prático medir separadamente essas substâncias. O TPH é um parâmetro útil e pode ser usado para as seguintes finalidades: identificação de uma contaminação, avaliação do grau de contaminação e para avaliação do progresso de um processo de remediação (NASCIMENTO, A. R. et al, 2008).

## 3.2 - CORROSÃO EM MATERIAIS METÁLICOS EM MEIO AQUOSO

### 3.2.1 - Conceito

A corrosão corresponde ao processo de deterioração de um material, geralmente metálico, por ação química ou eletroquímica do meio associada ou não a esforços mecânicos. O seu estudo é importante para evitar perdas e colapso de materiais metálicos utilizados em diversas construções como, por exemplo, viadutos, pontes, dutos, tanques de armazenamentos e equipamentos, enfim todo segmento que utiliza o aço como material construtivo (GENTIL, V. 2011).

Na indústria de petróleo, o material metálico é utilizado desde extração, armazenamento e distribuição. Os combustíveis são propensos a sofrer corrosão quando em contato com água que causam uma série de problemas desde, a estocagem até o consumo do combustível. A água pode estar presente na forma dissolvida ou livre. O combustível diesel pode absorver cerca de 50ppm de água dissolvida enquanto a água dissolvida pode afetar a estabilidade do combustível, a água livre está associada aos efeitos da corrosão e ao aparecimento de micro-organismos (VIDELA, H. A. 2003).

### 3.2.2 - Material utilizado

Um dos materiais metálicos mais empregados no setor industrial, inclusive na indústria do petróleo é o aço carbono, que corresponde a uma liga ferro-carbono com teor de carbono inferior a 2% e alguns elementos residuais em pequenas concentrações, como silício, fósforo e enxofre (NUNES, L. P. 2007).

O biodiesel e suas misturas com óleo diesel poderão apresentar formação de sedimentos decorrentes de reações de oxidação, quando em contato com materiais a base de cobre, chumbo, titânio, zinco, aços revestidos, bronze e latões. Portanto, o uso desses metais deve ser evitado, tanto no transporte, como no armazenamento do referido combustível. Os materiais compatíveis são o aço carbono, o aço inoxidável e o alumínio.

O aço carbono é utilizado de uma forma mais geral e tem sido o material de construção industrial de maior importância na sociedade moderna, seja pelas características mecânicas, seja pela facilidade de construção, especialmente, quanto à soldabilidade e baixo custo. Apesar de possuir baixa resistência à corrosão a utilização de revestimentos, a modificação do meio corrosivo, a utilização de inibidores de corrosão e a utilização da proteção catódica são alternativas para conferir proteção e durabilidade ao material (NUNES, L. P. 2007).

### 3.2.3 - Corrosão eletroquímica

A deterioração de um metal ocorre devido a interações entre o metal e meio aquoso (ZUO R. 2007). A reação eletroquímica geral no processo de corrosão inclui a dissolução dos metais e redução de alguma espécie presente no meio, conforme descrição a seguir:

$M \leftrightarrow M^{2+} + 2e^-$ (anodo) e o consumo de elétrons:

$1/2O_2 + H_2O + 2\,e^- \leftrightarrow 2OH^-$ (catodo na presença de oxigênio) ou

$2H^+ + 2e^- \leftrightarrow 2H \leftrightarrow H_2$ (catodo na ausência de oxigênio).

Vários fatores podem afetar a velocidade de corrosão e a composição dos produtos de corrosão, tais como, tipo do metal, composição química do meio, reações eletroquímicas e a ação dos micro-organismos (GENTIL, V. 2011; VIDELA, H. A. 2003 e ZUO, R. 2007).

### 3.2.4 - Formas de corrosão

Segundo GENTIL, V. (2011), a corrosão pode ser classificada quanto à morfologia em:

- Corrosão uniforme - é uma corrosão uniforme que se processa em toda extensão da superfície, ocorrendo perda uniforme de espessura.
- Corrosão localizada - esse tipo de corrosão se processa em pontos ou pequenas áreas localizadas na superfície metálica produzindo pites, que são cavidades que apresentam o fundo em forma angulosa e profundidade geralmente maior do que o seu diâmetro.

Quanto à fenomenologia em:

- Corrosão galvânica - a corrosão eletroquímica acelerada que ocorre quando dois materiais metálicos diferentes são eletricamente conectados, por contato direto ou por um condutor elétrico, e imersos em um eletrólito.
- Corrosão por aeração diferencial - tem-se a aeração diferencial quando um material metálico está imerso em regiões diferentemente aeradas, constituindo tipo de heterogeneidade que conduz a formação de uma pilha de aeração diferencial. Áreas anódicas (regiões menos aeradas) e áreas catódicas (regiões mais aeradas).
- Corrosão-erosão - a corrosão de um metal em contato com um fluido em movimento pode muitas vezes ser aumentada por efeitos dinâmicos. Esse tipo de corrosão implica ações erosivas e corrosivas do meio, devido ao movimento relativo existente entre esse e o material metálico.

- Corrosão sob fadiga - quando um metal é submetido a solicitações mecânicas alternadas ou cíclicas pode ocorre um tipo de fratura denominada fratura por fadiga.
- Corrosão sob tensão - tem-se a deterioração de materiais pela ação combinada de tensões residuais ou aplicadas e meios corrosivos. Ela difere da corrosão sob fadiga por ter solicitações estáticas.
- Corrosão atmosférica - a ocorrência da corrosão atmosférica depende de diversos fatores, tais como: umidade relativa, substâncias poluentes (particulados e gases), temperatura, tempo de permanência do filme de eletrólito na superfície metálica e fatores climáticos.
- Fragilização pelo hidrogênio - o hidrogênio interage com a maioria dos metais por uma série de mecanismos, resultando em modificações das propriedades mecânicas que levam a fraturas frágeis e altamente danosas.
- Corrosão influenciada microbiologicamente (CIM) ou biocorrosão - A biocorrosão é resultado de um processo eletroquímico onde os micro-organismos podem participar acelerando diversas reações. Destacando-se nesses processos as bactérias sulfato redutoras (BRS).

## 3.3 - MICRO-GANISMOS ENVOLVIDOS NA FORMAÇÃO DE BIOFILMES E NOS PROCESSOS DE BIOCORROSÃO

Os micro-organismos envolvidos no processo de biocorrosão estão associados a sistemas de biofilmes, estruturas complexas que apresentam uma variável distribuição de células e agregados celulares, produtos metabolitos como polímeros extracelulares e espaços vazios ou canais por onde circula a água e nutrientes. São estruturas heterogêneas e dinâmicas onde o número de micro-organismos varia a todo instante (De FRANÇA, F. P. e CRAVO, W. B. JR. 2000, VIDELA, H. A. 2003). Em termos percentuais, a matriz do biofilme é composta por: água até 97%; células microbianas (2-5%); polissacarídeos - homo e heteropolissacarídeos, neutros e polianiônicos (1-2%); proteínas - extracelulares e resultante de lises (< 1-2%,

incluindo enzimas); DNA e RNA (< 1-2%, células lisadas) e íons ligados e livres. (SUTHERLAND, I. W. 2001).

O desenvolvimento do biofilme envolve as seguintes etapas (Figura 6):

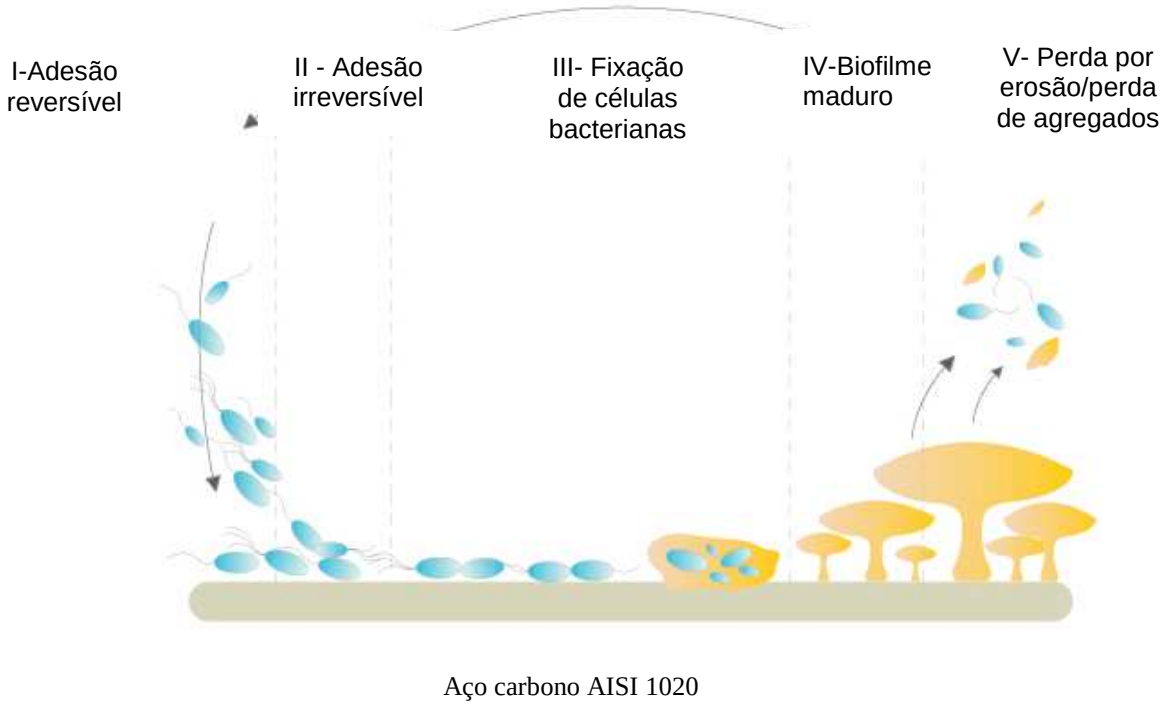
I- Adesão reversível - transporte de células livres do meio líquido para uma superfície sólida e sua subsequente fixação.

II- Adesão irreversível - crescimento e divisão das células fixadas à custa de nutrientes provenientes do líquido circulante, conjuntamente com a produção de metabólitos e excreção, enfatizando-se os EPS.

III- Fixação de outros micro-organismos flutuantes (e outras partículas), contribuindo para o espessamento do biofilme.

IV - Biofilme maduro - formado pela aglomeração de vários micro-organismos e interação metabólica entre eles.

V - Liberação de material celular por dois mecanismos diferentes: perda por erosão (perda de células individuais) e liberação de células devido à velocidade de fluxo, morte celular e etc.




Adaptado de Ghigo, J. M. (2003)

Figura 6 - Etapas envolvidas na formação de biofilmes - fatores físicos e fatores biológicos.

### 3.3.1 - Estrutura do biofilme

Por estrutura de biofilme entende-se a forma tridimensional (3D) do biofilme em conjunto com a distribuição espacial das substâncias imobilizadas, tanto bióticas como abióticas, no mesmo biofilme. Essa estrutura também varia em função do tipo de células presentes e sua fisiologia, nutrientes e condições físicas do ambiente.

A forma do biofilme define a forma da interface biofilme/líquido através do qual todo o transporte de massa de solutos ocorre, e as distâncias difusionais que definem o micro - ambientes. A estrutura do biofilme tem um papel importante na atividade do mesmo. Em conjunto com as condições hidrodinâmicas e do fornecimento de nutrientes, a forma do biofilme influencia a transferência de massa de espécies químicas envolvidas (XAVIER, J. B. et al, 2003).

### 3.3.2 - Características positivas e negativas de um biofilme

Em estações de tratamento de água ou de efluentes a formação de biofilmes é incentivada visando à remoção de organismos patogênicos e a redução da quantidade das matérias orgânicas presentes na água e no efluente. Em alguns bioprocessos ocorre à formação de biofilmes constituídos por espécies isoladas, como por exemplo, na produção de vinagre e do ácido cítrico e na indústria farmacêutica, para produção de metabólitos secundários.

Os biofilmes indesejáveis são aqueles que participam dos processos de corrosão, promovem contaminação e biodeterioração de produtos em processamento ou processado. Determinam perdas energéticas relacionadas com o aumento de atrito, resistência acrescida à transferência de calor, perdas de pressão, além da contaminação de canalizações tornando a água imprópria para o consumo (LECHEVALLIER, M. W; BABCOCK, T. M. e LEE, R. G. 1997; HEITZ, A. R. e ALEXANDER, R. 2000).

Fatores hidrodinâmicos como a velocidade de circulação de fluídos nos dutos influenciam a formação e acúmulo de biofilmes. Inicialmente, ocorre o transporte de massa de nutriente, criando uma região rica em substâncias orgânicas e inorgânicas seguida da aderência de células para as superfícies sólidas podendo, posteriormente, ocorrer o início da erosão do material.

Em sistemas de fluxo laminar, a transferência de células e nutrientes é a etapa que limita a colonização. Neste caso, o acúmulo de biofilme aumenta propiciando uma estrutura mais densa e menos estável. Quando o sistema está sob a influência de um regime turbulento, os biofilmes formados são menos densos, entretanto, são mais aderentes e de difícil destacamento (De FRANÇA, F. P. e CRAVO, W. B. JR. 2000).

Os micro-organismos formadores de biofilmes pertencem a vários grupos, destacando-se as bactérias, fungos e microalgas. A seguir são apresentados grupos microbianos comumente encontrados em sistemas da indústria de petróleo.

- Bactérias redutoras de sulfato (BRS) - apresentam elevado destaque nos processos corrosivos. A corrosão mediada por BRS não está relacionada apenas com a formação de biofilmes. Existem vários modelos que pretendem explicar o mecanismo através do quais as BRS participam neste processo. Entre estes mecanismos destaca-se a teoria da despolarização catódica, que consiste na aceleração da reação catódica através da utilização do hidrogênio pelas BRS para a redução do sulfato a sulfeto ($Fe^{2+} + S^{2-} \rightarrow FeS$) (TORRES, E. S e De FRANÇA, F. P, 2002; GAYLARDE, C. C. et al, 1999).

  Outra explicação sugere que as substâncias poliméricas extracelulares (EPS), produzidas pelas bactérias, nomeadamente polissacarídeos e proteínas, podem também, contribuir para o processo de biodeterioração devido à sua capacidade de se ligarem a íons metálicos e de promoverem a adesão irreversível de células, facilitando à colonização das superfícies (RUBIO, C. et al, 2006; VIVEROS, A. P; OCHOA, G. E; ALAZARD, D. 2006; VIDELA, H. A. 2002; WOLFGANG, S. e GEHRKE, T. 2006; MARCHAL, R; CHAUSSEPIED, B. e WARZYWODA, 2001).

  As bactérias redutoras de sulfato são bactérias que possuem a habilidade de reduzir o sulfato pela via desassimilativa com a finalidade de gerar energia para as reações de biossíntese relacionadas ao seu crescimento e manutenção com a produção de sulfeto de hidrogênio ($H_2S$). São bactérias heterotróficas anaeróbias estritas e apesar dessa condição, são capazes de tolerar a presença de oxigênio em condições ambientais extremas (BEECH, I. B e GAYLARDE, C. C. 1999; CETIN, D. e AKSU, M. L. 2009).

  A produção biogênica de $H_2S$ por BRS gera graves problemas ambientais e de corrosão no processamento e armazenamento do petróleo. O $H_2S$ é corrosivo e tóxico. No entanto, a utilização de BRS em reatores controlados poderia desempenhar um papel fundamental no tratamento de drenagem em minas ácidas, que vem sendo um grande desafio ambiental para a indústria de exploração de minério. As BRS participam do ciclo do enxofre (TANG, K; BASKARAM, V; NEMATI, M. 2009; LIU, Y. J. et al, 2009).

Vieira, D. M. & De França, F. P. et al, (2005) relataram em seus estudos da capacidade de adsorção de chumbo pelas BRS, concentrações celulares em torno de $10^6$ células/mL foram eficientes na biossorção do metal numa concentração de 500mg/mL.

- Bactérias oxidantes de enxofre pertencentes ao gênero *Acidithiobacillus*, participantes do processo de corrosão devido à formação de ácidos inorgânicos agressivos formados a partir da oxidação de enxofre ou compostos de enxofre, tais como sulfeto, sulfito, tiosulfato, sulfato, com simultânea produção de ácido sulfúrico. São bactérias Gram negativas, aeróbias estritas, crescem em valores de pH ácido muito baixo e são quimiolitotróficas, micro-organismos que utilizam compostos inorgânicos como fonte de energia (RUBIO, C. et al, 2006).
- Bactérias precipitantes do ferro também estão presentes, tais como, as pertencentes aos gêneros *Gallionella* e *Crenothrix*, que convertem o íon ferroso levando a de hidróxido férrico, responsáveis pela formação de turbéculos (De FRANÇA, F. P. e CRAVO, W. B. JR. 2000). Estas bactérias são aeróbias, Gram negativas e quimiolitotróficas.
- Os fungos, uma vez presentes nos biofilmes em condições aeróbias, atuam de maneira corrosiva pela excreção de metabólitos ácidos, em alguns casos, mesmo quando condições de anaerobiose são estabelecidas (GENTIL,V. 2011). Este grupo são os principais responsáveis pelo espessamento do biofilme. A corrosão ocorre, principalmente, em tanques de combustíveis de querosone de avião. O *Hormoconis resinae*, *Penicillium luteum* e *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* e *Penicillium sp* (conhecidos por produzirem ácido cítrico) estão envolvidos nesses processos.

Os micro-organismos também produzem ácidos orgânicos como co- produtos de seu metabolismo (BEECH, I. B e GAYLARDE, C. C. 1999). Dentre esses micro-organismos destacam-se os *Streptococcus* sendo os ácidos acético, fórmico e lático os co-produtos mais excretados. Bactérias produtoras de limo como a *Pseudomonas aeruginosa* que excretam polissacarídeos extracelulares de caráter ácido durante a formação do biofilme na superfície do metal influenciam o processo corrosivo. Estas

bactérias também estão associadas à degradação de combustíveis (GENTIL, V. 2011; PERRY, T. D. et al, 2004).

As algas também produzem ácidos orgânicos com ação corrosiva (MARCUS E OUDAR, 1995). A deposição das algas sobre as superfícies metálicas promove o surgimento de regiões com gradientes de concentração de oxigênio, possibilitando o desenvolvimento dos micro-organismos anaeróbios como as BRS. O crescimento das algas, em simbiose com outros micro-organismos, também modifica o pH e forma pilhas de aeração diferencial (GONÇALVES, N. J. 2002).

Processos de biocorrosão na superfície de metais são associados a micro-organismos ou aos seus produtos metabólicos, tais como: enzimas, exopolímeros, ácidos orgânicos e inorgânicos e compostos voláteis como amônio ou sulfeto de hidrogênio. Todos estes produtos podem afetar as reações catódicas e/ou anódicas, alterando processos eletroquímicos na interface biofilme/metal (BEECH, I. B e GAYLARDE, C. C.1999; VIDELA H. A. 2003).

Viveros, A. P; Ochoa, G. E; Alazard. (2006), observaram que em condições oligotróficas (pobres em nutrientes), as BRS podem induzir o risco do aumento da corrosão localizada em aço carbono SAE 1010, que apresentou a taxa de corrosão em torno de 0,2 mm/ano e formação de pites. Interações eletrotásticas, facilitam a degradação do metal por oxidação e tem um papel como nutriente (WOLF GANG SAND e TILMAN GEHRKE, 2006; BEECH, I. B. e GAYLARDE, C. C. 1999).

Estudos de corrosão microbiológica realizados com aço inoxidável imersos em amostras de petróleo coletadas na Venezuela e no Brasil demonstraram, por meio de técnicas de micrografia e análises de energia dispersiva de Raios-X, que o petróleo brasileiro é o mais agressivo (MACHADO, E. S. P. J. et al, 2005).

Tanji, Y. et al, (2006) em seus estudos para avaliar a capacidade de remoção da matéria orgânica pelos biofilmes formados em tubulação de esgoto doméstico, testaram seis blocos de concreto de composição variada e constataram que houve a formação de biofilmes em todos os blocos e chegaram à conclusão de que a composição dos blocos de concreto não afeta capacidade de remoção.

## 3.4 - PREVENÇÃO E CONTROLE DA CORROSÃO

Na literatura especializada são descritos diversos métodos para combater a corrosão baseados na modificação de processos, do meio corrosivo e do metal e na utilização de revestimentos protetores. As medidas mais comumente usadas no combate à corrosão são baseadas nestes métodos.

Dentre elas pode-se citar o emprego dos inibidores de corrosão, a utilização de revestimentos metálicos e não metálicos orgânicos (tintas e polímeros) e inorgânicos (anodização, cromatização e fosfatização), a realização de limpeza mecânica (passagem de pigs) e química (decapagem ácida, utilização de biocidas), proteção catódica e proteção anódica.

Nos métodos empregados para o controle da biocorrosão dois aspectos são fundamentais:

- A inibição do crescimento ou atividade metabólica dos micro-organismos;
- A modificação das características do ambiente onde se desenvolve a corrosão, a fim de evitar a adaptação dos micro-organismos no meio.

É importante ressaltar as características do sistema (regime de funcionamento), a características da água (utilizada nos sistemas de resfriamento ou injeção), a geometria do sistema e os materiais utilizados nas estruturas.

Tradicionalmente, os micro-organismos foram sempre considerados vilões na corrosão biológica, mas, recentemente, estudos publicados demonstram o efeito protetor de alguns biofilmes bacterianos na corrosão de metais, Potekhina, J. S. et al, (1999), Zuo, R. (2007) e Videla, H. A. (2009), relatam em seus estudos alguns procedimentos para utilização de biofilmes protetores como: biofilmes que removam agentes corrosivos, por exemplo, o oxigênio, por respiração aeróbica e excreção de agentes antimicrobianos e geração de camadas protetoras. Essas estratégias poderão substituir o uso tradicional de biocidas futuramente.

# CAPÍTULO 4

# MATERIAIS E MÉTODOS

## 4.1 - CORPOS-DE-PROVA

Foram utilizados corpos-de-prova cilíndricos, em forma de anel, confeccionados em aço carbono AISI 1020 com diâmetro interno de 50 mm e largura 10 mm, equivalente a uma área exposta de 1587 $mm^2$. Os corpos-de-prova foram jateados com micro esferas de vidro e tratados quimicamente, conforme descrito por Torres, E. S. et al, (2004). Para obtenção das imagens em MEV foram utilizados corpos-de-provas retangulares com dimensões de 10 mm x 30 mm.

## 4.2 - FLUIDOS UTILIZADOS NOS EXPERIMENTOS

### 4.2.1 - Água do mar

As amostras foram coletadas na região do complexo industrial e portuário de Suape, (Ipojuca - Pernambuco), acondicionadas em bombonas plásticas com capacidade para 20L e, em seguida, encaminhadas para o laboratório.

A água do mar foi transferida para o reservatório do *Looping* 1 (Figura 7), construído em aço inoxidável 316L.

A caracterização físico-química preliminar e indicativa da água do mar foi realizada para verificar a presença dos principais parâmetros relacionados aos processos de corrosão como salinidade, concentração de oxigênio dissolvido, condutividade e presença de impurezas. Os resultados podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1 - Análise físico-química da água do mar

| **Parâmetros analisados** | **Resultados** |
|---|---|
| Salinidade | 2,99% |
| Turbidez | 1,1uT |
| Condutividade | 38,0mS/cm |
| Cloretos (em $Cl^-$) | 15,909 mg/L |
| Dureza total ($CaCO_3$) | 5,851 mg/L |
| Alcalinidade total ($CaCO_3$) | 125 mg/L |
| Sódio (em Na) | 17,2 mg/L |
| Oxigênio dissolvido (em $O_2$) | 7,0 mg/L |
| Nitrogênio amoniacal | Ausência |
| pH | 8,10 |

### 4.2.2 - Água doce

As amostras foram coletadas na estação de tratamento da UFPE, acondicionadas em bombonas plásticas com capacidade para 20L e, em seguida, encaminhadas para o laboratório.

A água do doce foi transferida para o reservatório do *Looping 2* (Figura 8), construído em aço inoxidável 316L.

A caracterização físico-química preliminar e indicativa da água doce oriundas da estação de tratamento da UFPE utilizada nos experimentos com B3 e da caixa d'água do Centro de Tecnologia da UFPE-CTG utilizadas nos experimentos com B5 foi realizada para verificação da presença dos principais parâmetros relacionados aos processos de corrosão como concentração de oxigênio dissolvido, presença de cloretos, pH e presença de impurezas. Os resultados podem ser observados na Tabela 2 e 3.

Tabela 2 - Análise físico-química da água doce da estação de tratamento da UFPE

| **Parâmetros analisados** | **Resultados** |
|---|---|
| Turbidez | <1uT |
| Cloretos | ausência |
| Alcalinidade total ($CaCO_3$) | 64 mg/L |
| Oxigênio dissolvido (em $O_2$) | 4,4 mg/L |
| Nitrogênio amoniacal | 0,35 mg/L |
| pH | 6,4 |

Tabela 3 - Análise físico-química indicativa da água doce da caixa d'água do Centro de Tecnologia da UFPE-CTG

| **Parâmetros analisados** | **Resultados** |
|---|---|
| Turbidez | 1,9uT |
| Cloretos (em $Cl^-$) | 28,3mg/L |
| Dureza total ($CaCO_3$) | 76,1mg/L |
| Sódio (em Na) | 26,2 mg/L |
| Ferro total | 0,31 mg/L |
| pH | 7,4 |

### 4.2.3 - Combustível B3 e B5

As amostras foram compradas em posto de combustíveis próximo a UFPE e acondicionadas em bombonas plásticas com capacidade para 20L e, em seguida encaminhadas para o laboratório. O diesel não foi armazenado no laboratório era

comprado no dia da realização do experimento, também não foi caracterizado quimicamente. O teor de enxofre das amostras comercializadas no período do experimento era de 500mg/kg.

## 4.3 - EQUIPAMENTOS

Os experimentos foram realizados em sistema de *Looping* fechado construído em aço inox 316L, segundo detalhamento apresentado nas Figuras 6 e 7. A circulação do fluido foi garantida pelo emprego de uma bomba centrífuga magnética e a vazão empregada nos experimentos foi controlada por rotâmetros.

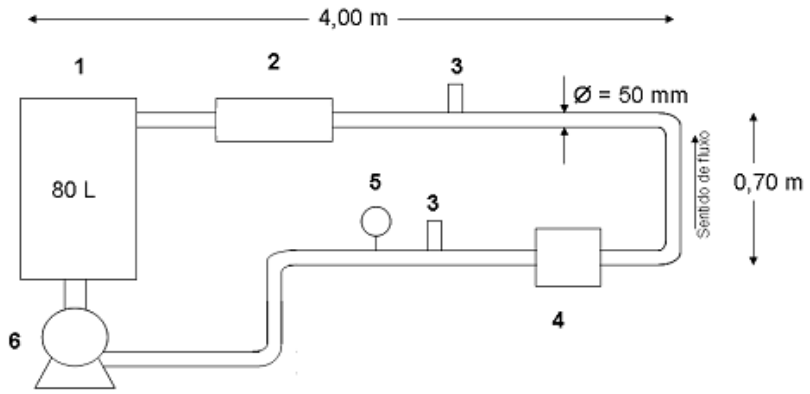



Figura 7 - Esquema do *Looping.* 1 - Reservatório com água do mar; 2 - Suporte para os corpos-de-prova; 3 - Termopar, 4 - Medidor de vazão; 5 - Medidor de pressão; 6 - Bomba centrífuga.

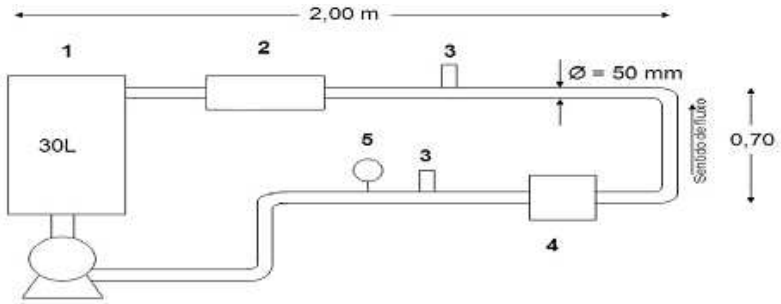
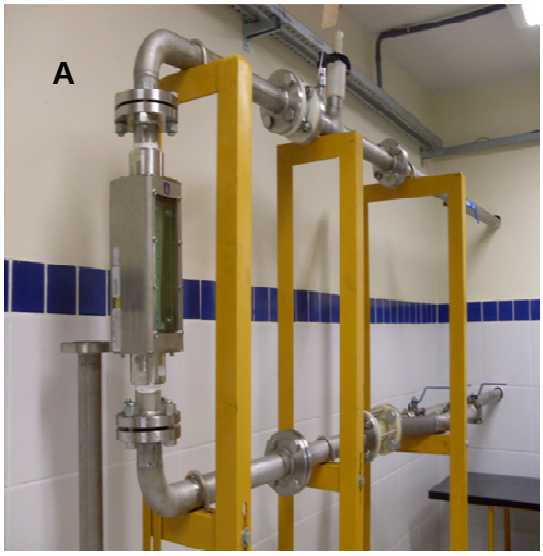



Figura 8 - Esquema do *Looping.* 2 - Reservatório com água do mar; 2 - Suporte para os corpos-de-prova; 3 - Termopar, 4 - Medidor de vazão; 5 - Medidor de pressão; 6 - Bomba centrífuga.

A diferença entre os dois equipamentos estava na capacidade dos reservatórios, nos rotâmetros utilizados e na potência da bomba. No *Looping* 1 foi utilizado um rotâmetro magnético modelo MAG 600050AF4TRT-Nikon Dwyler e bomba centrífuga Bomax, modelo Maxbloc 421-3,SME - polipropileno e potência de 5,5HP. No *Looping* 2 foi utilizando um rotâmetro AALBORG MS-VQ-M17-02-ST em aço inox 316L, bomba centrífuga Tetralon, model: DB 11P-4-94 e pressão máxima de 90 bar.

Nas Figuras 9 e 10 temos uma visão geral dos *Looping*

Figura 9 - Fotografia do *Looping* 1



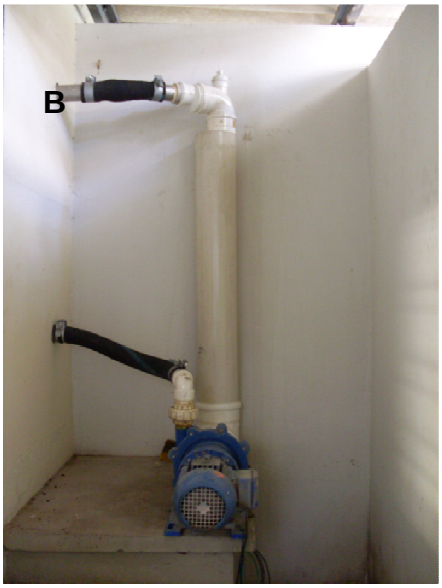




Figura 10 - Fotografia A - vista geral do *Looping* 2; Fotografia B - Tanque do *Looping* 2.

Os corpos-de-prova metálicos foram inseridos ao *looping* através de uma câmara ou suporte, construída em PVC. Os corpos-de-prova foram fixados por pressão, onde permaneciam presos à tubulação até a finalização do experimento. Em cada corrida foram colocados 3 corpos-de-prova (Figuras 11).

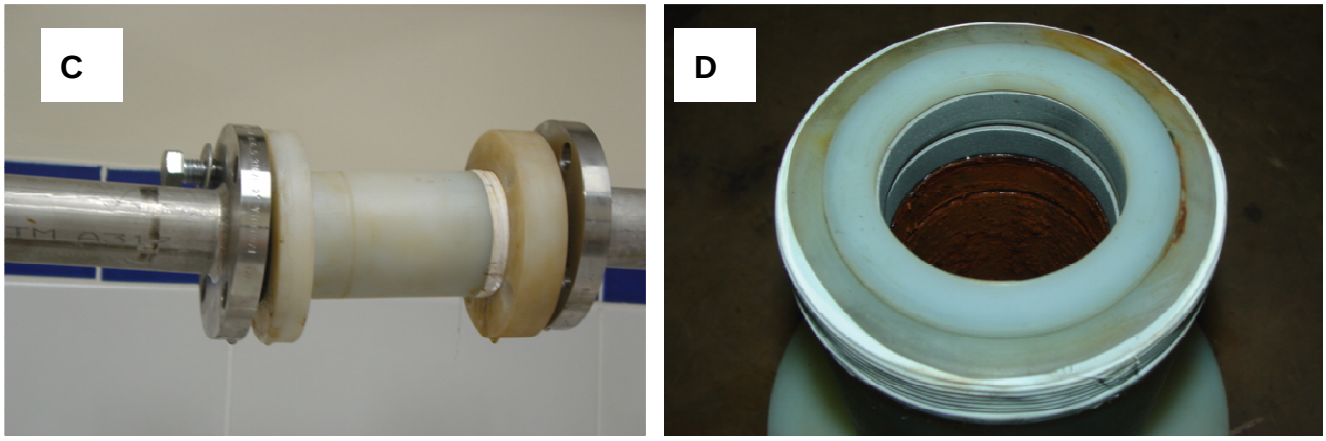



Figura 11 - Fotografias: C e D - Detalhes da câmara e inserção dos corpos-de-prova.

## 4.4 - EXPERIMENTOS

### 4.4.1 - Efeito de diferentes vazões na formação de biofilmes na água do mar

Nesta etapa utilizou-se apenas água do mar por ser um fluido muito utilizado em plataformas de petróleo e geralmente veicula uma microbiota bastante diversificada, que varia em função da localização geográfica, como não havia estudos da microbiota da água do mar da região portuária de Suape, a finalidade foi quantificar e verificar a capacidade de aderência da microbiota relacionando ao efeito da variação da vazão na formação de biofilmes. Os experimentos foram conduzidos no *Looping* 1.

As vazões estudadas foram 1,94, 3,61 e 4,44 L/s, que equivalem, respectivamente, as velocidades de escoamento de 0,99, 1,84 e 2,26 m/s, equivalente também aos seguintes números de Reynolds de: $4,95 \times 10^5$; $9,20 \times 10^5$; $1,13 \times 10^6$. Portanto, todos os estudos foram conduzidos em regime turbulento. Essas vazões foram definidas em função do ajuste do fluxo manualmente.

Para os experimentos com água salgada todos os meios foram suplementados com cloreto de sódio para uma concentração final de 30g/L.

### 4.4.2 - Formação de biofilmes utilizando diferentes concentrações do combustível B3 + água doce

Nesta etapa foi utilizado o *Looping* 2 e os fluidos aquosos foram água doce e água doce adicionado de diesel/biodiesel (B3) nas seguintes proporções:

30 litros de água doce

27 litros de água doce adicionada de 3 litros de (B3) comercial (10%)

21 litros de água doce adicionada de 9 litros de (B3) comercial (30%)

12 litros de água doce adicionada de 18 litros de (B3) comercial (60%)

Todos os experimentos foram executados em temperatura ambiente com ausência de climatização, a temperatura do fluido variou entre 35 - 45°C, e conduzidos por um período de 15 dias. A vazão foi fixada em 1 L/s, que equivale, a velocidade de escoamento de 0,51m/s para todos os experimentos com B3 e B5 + água doce. A pressão foi fixada em 1psi. Os micro-organismos planctônicos foram quantificados apenas no início do experimento e ao final apenas os sésseis.

### 4.4.3 - Formação de biofilmes utilizando diferentes concentrações do combustível B5 + água doce

Nesta etapa os experimentos foram realizados mantendo todas as condições utilizadas nos ensaios anteriores realizados com B3, diferenciando a temperatura do ambiente, os experimentos foram realizados em ambiente climatizado, a temperatura foi fixada em 16°C. A temperatura do fluido se manteve em torno de 43±2°C, também foram conduzidos no *Looping* 2 e os fluidos aquosos foram água doce adicionada de diesel/biodiesel (B5) nas seguintes proporções:

30 litros de água doce

27 litros de água doce adicionada de 3 litros de (B5) comercial (10%)

21 litros de água doce adicionada de 9 litros de (B5) comercial (30%)

12 litros de água doce adicionada de 18 litros de (B5) comercial (60%)

6 litros de água doce adicionada de 24 litros de (B5) comercial (80%)

Ao final de cada experimento os corpos-de-prova foram acondicionados em frascos contendo uma solução redutora. A retirada do biofilme foi realizada por raspagem mecânica usando espátula estéril. Para quantificação dos micro-organismos aeróbios as diluições foram feitas em uma solução salina de 0,85% de NaCl e para as anaeróbias utilizou-se a solução redutora.

A composição da solução redutora usada, em g/L é: tioglicolato de sódio 0,124; extrato de levedura 2,5; ácido ascórbico 0,1; NaCl 8,5; resazurina (0,025%) 4mL; água destilada 1000mL. O pH da solução foi ajustado para 7,2±0,2, purgado com $N_2$ e esterilizado a 121ºC por 15 minutos.

## 4.5 - ANÁLISES QUANTITATIVAS

### 4.5.1 - Quantificações microbianas

#### Quantificação de bactérias aeróbias

As bactérias aeróbias totais foram quantificadas por contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) em meio de cultura *Plate Count* Agar (PCA) desidratado (Merck, Darmstadt, Germany), empregando a técnica *Pour Plate*, após 48 horas de incubação a 35±1ºC.

A composição química do meio de cultura - PCA em g/L é: peptona de caseína 5,0g; extrato de levedura 2,5; glicose 1,0; agar 14; água destilada 1000mL. pH=7,0±0,2, esterilização a 121ºC por 15 minutos.

**Quantificação de ferrobactérias**

As Ferrobactérias também foram quantificadas empregando a técnica Pour Plate, utilizando-se um meio contendo citrato férrico amoniacal (Videla, H. 2002), após 15 dias de incubação a 35±1ºC.

A composição química do meio para ferrobactérias g/L é: $(NH_4)_2.SO_4$) 0,5; ($NaNO_3$) 0,5; ($K_2HPO_4$) 0,5; ($CaCl_2.2H_2O$) 0,134;($MgSO_4$. $7H_2O$) 0,5; citrato férrico amoniacal 10; agar 15; água destilada 1000mL. pH = 6,6±0,1, esterilização a 121ºC por 15 minutos.

**Quantificação de bactérias anaeróbias**

As bactérias anaeróbias totais foram quantificadas pela técnica de Número Mais Provável (NMP), em meio fluido de tioglicolato desidratado (Merck, Darmstadt, Germany), purgado com $N_2$, após 21 dias de incubação a 35±1ºC.

A composição química do caldo fluido tioglicolato em g/L é: peptona de caseína 15; extrato de levedura 5,0; glicose 5,5; L-cistina 0,5; cloreto de sódio 2,5; tioglicolato de sódio 0,5; resazurina 0,001; agar 0,75; água destilada 1000mL. pH=7,1±0,2, esterilização a 121ºC por 15 minutos.

**Quantificação de bactérias redutoras de sulfato**

As bactérias redutoras de sulfato (BRS) foram quantificadas pela técnica de NMP, em meio Postgate - E modificado (Postgate, J. R. 1984) purgado com $N_2$, após 21 dias de incubação a 35±1ºC.

A composição química do meio Postgate - E modificado em g/L é: $KH_2PO_4$ 0,5; $NH_4Cl$ 1,0; $CaCl_{2.}$ 2 $H_2O$ 0,67; $MgCl_2.6H_2O$ 1,6; $Na_2SO_4$ 1,0; $FeSO_4.7H_2O$ 0,5; extrato de levedura 1,0; ácido ascórbico 0,10; solução de lactato de sódio 5,0 mL; solução de resazurina (0,025%) 4,0mL; agar 1,9; água destilada 1000mL. pH=7,8±0,1 esterilização a 121ºC por 15 minutos**.**

**Quantificação de fungos filamentosos**

Os Fungos totais foram quantificados por contagem em placa de unidades formadoras de colônia (UFC) empregando a técnica *Pour Plate* em meio potato dextrose Agar desidratado (Merck, Darmstadt, Germany), após 5 dias de incubação a 30±1ºC.

A composição química do meio BDA em g/L é: infusão de batatas 200; glicose 20; agar 15; água destilada 1000mL. pH=5,6±0,2, esterilização a 121ºC por 15 minutos.

Após a autoclavação o meio foi suplementado assepticamente, com 14 mL de uma solução de ácido tártarico a 10%.

**Quantificação de bactérias aeróbias produtoras de ácidos**

As bactérias aeróbias produtoras de ácidos foram quantificadas pela técnica de Número Mais Provável (NMP), em meio caldo vermelho de fenol desidratado (Acumedia, Michigan,USA), suplementado com 1% de sacarose, após 48 horas de incubação a 35±1ºC.

A composição química do caldo vermelho de fenol em g/L é: peptona de caseína 5,0; peptona de carne 5,0; cloreto de sódio 5,0; vermelho de fenol 0,018; sacarose 10; água destilada 1000mL. pH=7,4±0,2, esterilização a 121ºC por 15 minutos.

**Quantificação de bactérias anaeróbias produtoras de ácidos**

As bactérias anaeróbias produtoras de ácidos foram quantificadas pela técnica de Número Mais Provável (NMP), em meio caldo vermelho de fenol desidratado (Acumedia, Michigan, USA), suplementado com 1% de sacarose, purgado com $N_2$, após 21 dias de incubação a 35±1ºC.

***Pseudomonas aeruginosa***

A *Pseudomonas aeruginosa* foi quantificada por contagem em placa de unidades formadoras de colônia (UFC) em meio de cultura Agar Cetrimide desidratado (Merck, Darmstadt, Germany), empregando a técnica *Pour Plate*, após 48 horas de incubação a 35±1ºC.

A composição química do meio Agar Cetrimide em g/L é: peptona 20; cloreto de magnésio 1,4; sulfato de potássio 10; cetrimide 0,3; Agar 13; glicerol 10mL; água destilada 1000mL. pH= 7,0±0,2, esterilização a 121ºC por 15 minutos.

### 4.5.2 - Determinaçao da taxa de corrosão

As perdas de massa foram quantificadas em intervalos de 15 dias. Utilizou-se um procedimento que envolveu etapas de raspagem mecânica do biofilme, decapagem ácida com uso de HCl 26% (v/v), seguido da lavagem em água destilada, neutralização com NaOH 10% (m/v), lavagem com água destilada e desengraxamento com álcool iso-propilico e acetona. Após secagem em estufa sob vácuo modelo MA - 030 (150mmHg) por 30 minutos a 70ºC, os corpos-de-prova eram transferidos para um dessecador e subsequentemente, pesados em balança analítica com 4 casas decimais, marca TECNAL.

As taxas de corrosão em (mm/ano) foram obtidas a partir da Equação:

$$\text{Taxa de corrosão} = \frac{pi - pf}{A \cdot T\left(dia/ano\right) \cdot D}$$

Onde: *pi* = peso inicial (g); *pf* = peso final (g); *A* = área do cupom($mm^2$); *D* = densidade do aço carbono (0,00786g/$mm^3$) e *T* = tempo de exposição (dia/ano).

### 4.5.3 - Análises físicas e químicas

**Difração de Raios - X (DRX)**

Os produtos de corrosão formados na superfície dos corpos-de-prova foram raspados, secos a 45ºC e analisados por difratometria de Raios - X, em equipamento da Rigaku, acoplado a uma fonte de Cu de 40kV e 20mA de corrente (OLIVEIRA, S. H. et al, 2008).

### 4.5.4 - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e análise de espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS)

Após a finalização dos experimentos, os corpos-de-prova foram mergulhados em uma solução fixadora de glutaraldeído a 5% em tampão cacodilato de sódio 0,1M pH 7,6 + água destilada (1:1). Em seguida repousaram em temperatura ambiente por 24 horas.

Após a etapa de fixação foram realizadas três lavagens consecutivas em tampão cocadilato de sódio 0,1M, pH 7,6, com duração de 10 minutos cada.

Em seguida os corpos-de-prova foram desidratados em álcool etílico em concentrações crescentes (30-100%), por período de cinco minutos em cada concentração. Após a secagem os corpos-de-prova foram metalizados com ouro (±15nm de espessura).

As visualizações foram feitas em microscópio eletrônico de varredura, modelo FEI Quanta 200 (PENNA, M. O. et al, 2002). Para análise dos elementos químicos e obtenção das imagens dos produtos de corrosão os corpos-de-prova não sofreram nenhum tipo de tratamento, apenas foram secos em estufa a 45°C.

### 4.5.5 - Análises cromatográficas realizadas nos experimentos B3 + água doce

Realizaram-se análises por cromatografia gasosa acoplada espectrometria de massas, GC/MS-QP5050A, nas seguintes condições:

Coluna: Valcobond VB-5; tamanho: 30; espessura: 0,25 µm; diâmetro: 0,25 mm.

Temperatura do injetor: 290°C; temperatura da interface: 280°C; modo de injeção: Split; gás de arraste: Hélio; pressão interna na coluna: 52,8 Kpa; fluxo da coluna: 1mL/minuto; velocidade linear: 36,3 cm/segundo; razão de split: 48; fluxo total: 50mL/minuto. Programação de temperatura inicial: 50°C por 2 minutos; variação: 6 em 6°C até 280°C estabilizado por 20 minutos.

Espectrômetro de massas: Tempo de varredura: 3 minutos até 60,37 minutos; varredura: 40 m/z até 350 m/z. As amostras foram tratadas por extração líquido-líquido com diclorometano ($CH_2Cl_2$), segundo Miranda, R. C. et al, (2007).

### 4.5.6 - Análise dos Hidrocarbonetos Totais do Petróleo (TPH) realizadas nos experimentos B5 + água doce

Para a determinação do TPH foi empregada a metodologia USEPA 8015C, que determina compostos orgânicos não halogenados através de cromatografia gasosa acoplada a um detector de ionização de chama. Foi utilizado um cromatógrafo a gás (Thermo Finnigan - Focus GC) e coluna OV-5 (30m x 0,25mm). Os extratos foram obtidos seguindo o método USEPA 3550C (*Ultrasonic Extraction*) empregando o diclorometano seco como solvente. A concentração das amostras foi realizada em atmosfera inerte, N2. A preparação dos extratos (*clean-up*) anterior à cromatografia seguiu o método USEPA 3630C, com uso de cartuchos descartáveis de sílica gel. Os valores de TPH total, incluindo os resultados das faixas de gasolina, querosene, diesel, óleo combustível, pristano e fitano, assim como a fração não resolvida no cromatograma, também denominada mistura complexa não resolvida. A análise foi realizada na fase aquosa.

### 4.5.7 - Análise dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) realizadas nos experimentos B5 + água doce

Os HPAs foram determinados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa, conforme o método USEPA 8270 D. Foi utilizado um cromatógrafo a gás (Thermo Fnnigan - Focus GC), coluna RTX-5MS (30m x 0,25mm) e um espectrômetro de massa (Themo Finnigan - Focus DSQ). Antes da injeção, os extratos foram obtidos

seguindo o método USEPA 3550 C (Ultrasonic Extraction) empregando o diclorometano seco com solvente. A concentração das amostras foi realizada em atmosfera inerte, N2. A preparação dos extratos (*clean-up*) anterior à cromatografia seguiu o método USEPA 3630C, com uso de cartuchos descartáveis de sílica gel. A análise foi realizada na fase aquosa.

### 4.5.8 - Análise do BTEX realizadas nos experimentos B5+ água doce

O BTEX: Benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos, foram determinados por cromatografia gasosa, conforme o método USEPA 8021 B. Foi utilizado um cromatógrafo a gás (Thermo Fnnigan - Trace GC Ultra), coluna OV-1 (30m x 0,53mm). Vials contendo as amostras são aquecidos e agitados para estabelecimento de um equilíbrio em *auto sampler Head Space*. O vapor gerado é injetado no GC através da linha de transferência e arraste utilizando-se gás inerte (Hélio) e os compostos identificados utilizando o detector de foto ionização (PID). A análise foi realizada na fase aquosa.

# CAPÍTULO 5

# RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 5.1 - EXPERIMENTOS USANDO ÁGUA DO MAR COMO FLUIDO CIRCULANTE

Na Tabela 4 está apresentado o resultado indicativo da quantificação dos micro-organismos realizados na água do mar antes de iniciar os experimentos em cada vazão estudada (1,94; 3,61 e 4,44L/s, respectivamente). Foi evidenciada a presença das principais bactérias responsáveis pela colonização microbiana na superfície do metal.

Tabela 4 - Análises microbiológicas dos micro-organismos planctônicos na água do mar antes de iniciar o experimento

| **Bactérias aeróbias (UFC/mL)** | **Ferrobactérias (UFC/mL)** | **BRS (NMP/mL)** | **Bactérias anaeróbias (NMP/mL)** | **Fungos (UFC/mL)** |
|---|---|---|---|---|
| $1,5 \times 10^3$ | $3,5 \times 10^3$ | 0,4 x 10 | $2,5 \times 10^2$ | < 10 |
| $3,3 \times 10^3$ | $2,2 \times 10^2$ | 0,4 x 10 | $9,5 \times 10^2$ | 3,0 x 10 |
| $4,1 \times 10^2$ | $4,2 \times 10^2$ | 0,4 x 10 | 2,0 x 10 | < 10 |

Não foi detectada a presença de fungos nos experimentos conduzidos na vazão de 1,94 e 4,44 L/s. As coletas foram realizadas no mesmo local, mas em datas diferenciadas e provavelmente fatores tais como, mudança de maré, correntes marítimas e salinidade influenciaram nesses resultados. Tabela 4.

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados das concentrações de micro-organismos planctônicos ao final de 15 dias de processo. A comparação dos dados da Tabela 5 com os da Tabela 4 permite verificar que não foram detectadas BRS planctônicas no fluido ao final de 15 dias. As concentrações das bactérias aeróbias totais sofreram um incremento significativo nas vazões de 1,94 e 4,44 L/s. As bactérias anaeróbias totais nas vazões de

1,94 e 3,61 L/s também tiveram um aumento na sua concentração ao final de 15 dias. As ferrobactérias não sofreram variações significativas.

Embora não tenha sido possível quantificar as BRS, possivelmente estas bactérias estavam presentes em número bastante reduzido que não foi detectada pela técnica do número mais provável (NMP), isto pode estar relacionado ao fato desse grupo de bactérias não se multiplicar na presença de oxigênio, embora sejam aerotolerante. Todos os experimentos foram conduzidos em regime turbulento, logo a aeração no fluido era intensa promovendo a incorporação de ar na água e corroborando para hipótese acima.

Tabela 5 - Efeito de diferentes vazões na concentração de micro-organismos planctônicos ao final de 15 dias de processo

| **Bactérias aeróbias (UFC/mL)** | **Ferrobactérias (UFC/mL)** | **BRS (NMP/mL)** | **Bactérias anaeróbias (NMP/mL)** | **Fungos UFC/mL** |
|---|---|---|---|---|
| $4,5 \times 10^4$ | $3,2 \times 10^3$ | < 10 | $2,0 \times 10^4$ | < 10 |
| $1,1 \times 10^3$ | $2,8 \times 10^2$ | < 10 | $4,0 \times 10^3$ | < 10 |
| $1,2 \times 10^3$ | $3,0 \times 10$ | < 10 | $9,0 \times 10$ | < 10 |

A concentração de bactérias sésseis, aderidas ao metal, está apresentada na Figura 12. Verificou-se que a concentração das bactérias anaeróbias sofreu uma pequena variação em todas as vazões estudadas. Encontraram-se valores entre $5,6 \times 10^4$ a $2,6 \times 10^5$ células/cm$^2$. A concentração de BRS nos biofilmes não variou de forma significativa com a vazão empregada. No entanto, cabe enfatizar que o aumento da vazão proporcionou incremento nesse parâmetro. Como estão localizadas na base do biofilme (zona anaeróbica) mais próximas da superfície metálica provavelmente não estão sujeitas aos fenômenos de arraste. Na menor vazão estudada a concentração de BRS foi de $1,4 \times 10^3$ e na vazão de 4,4 L/s, observou-se $2,6 \times 10^4$ células/cm$^2$.

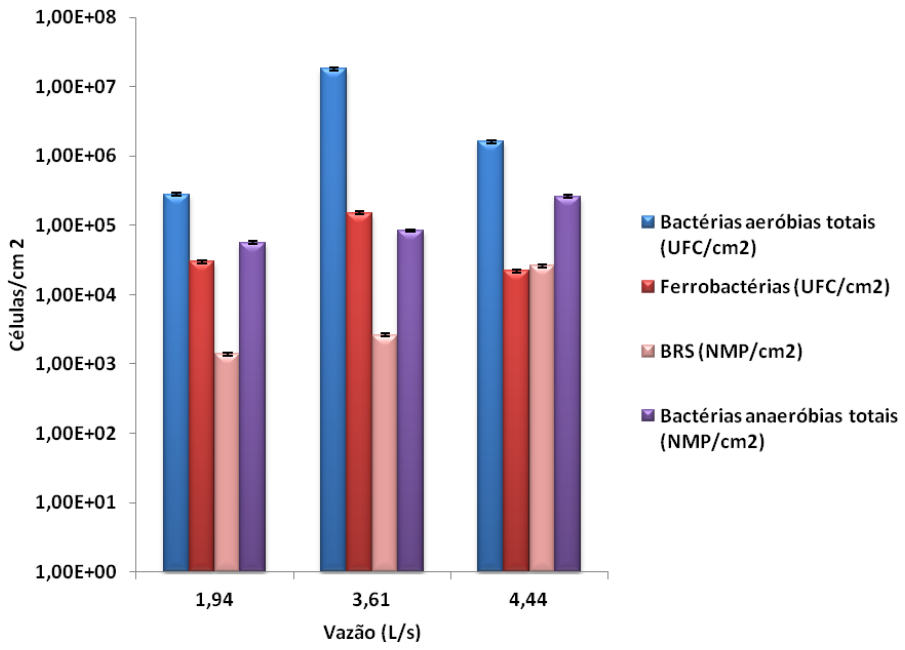



Figura 12 - Efeito de diferentes vazões na concentração de micro-organismos sésseis em ligas de aço carbono AISI 1020 ao final de 15 dias de processo.

De França, F. P. e Cravo, W. B. JR. (2000) evidenciaram que as velocidades de escoamento de 3,6, 17,4, 26,0 e 34,8 m/s estudadas influenciava na adesão da microbiota séssil, as bactérias aeróbias diminuíram com o aumento da velocidade de fluxo, observando-se uma maior queda na velocidade de 34,8m/s. Esse comportamento não foi observado nos experimentos desta tese porque as velocidades estudadas foram de 0,99; 1,84 e 2,26m/s. A variação nas velocidades não foi significativa, por isso não afetou aderência das bactérias na superfície metálica.

Um comportamento semelhante foi observado para as Ferrobactérias. Os micro-organismos aeróbios ao consumir o oxigênio produzem biopolímeros que permitem a formação de regiões anaeróbias na base do biofilme oferecendo condições para a implantação e multiplicação das bactérias anaeróbias.

Essa distribuição heterogênea de oxigênio é importante nos processos de oxidação na formação do biofilme, após o seu desenvolvimento, a difusão diminui com o aumento da espessura (HIBIYA, K. et al, 2004). O efeito de difusão do oxigênio também pode diminui com o aumento da velocidade de fluxo (BEYNAL, H. e LEWANDOWSKI, Z. 2000).

O crescimento de um filme passivo na superfície do metal restringe o transporte de íons entre a superfície do metal e água afetando também a velocidade do consumo de oxigênio dissolvido (STAAL, M. et al, 2011).

Segundo Vargas, I. T. et al, (2009), o efeito da reatividade aos produtos de corrosão sólidos na velocidade de consumo de oxigênio na superfície do cobre na fase de oxidação e formação de óxidos não afeta o transporte de íons e o consumo de oxigênio se mantêm constante.

Torres, E. S. e De França, F. P. (2002), também evidenciaram que a alteração na concentração do oxigênio dissolvido também altera a composição da microbiota aderida à superfície metálica.

### 5.1.1 - Taxa de corrosão

Na Figura 13 estão apresentados os resultados das taxas de corrosão. Verifica-se que o aumento da vazão de 1,94 L/s para 3,61 L/s promoveu aumento desse parâmetro de 0,74±0,07 mm/ano para 1,03±0,05 mm/ano. Em seguida, o aumento da vazão de 3,61 para 4,44 L/s não promoveu modificação significativa na taxa de corrosão. Os resultados obtidos corroboram com estudos anteriores que relatam que o aumento nos valores de vazão também aumenta a taxa de corrosão de ligas metálicas (De FRANÇA, F. P. e CRAVO, W. B JR. 2000).

Segundo a classificação da norma NACE - Standard RP-0775, a taxa de corrosão (mm/ano), maior do que 0,25 é classificada como severa. Os elevados valores encontrados podem estar relacionados com a presença elevada de BRS nos biofilmes, contribuindo para o processo de biocorrosão e também devido às reações entre o cloreto na superfície do metal (WANG, W. 2012).

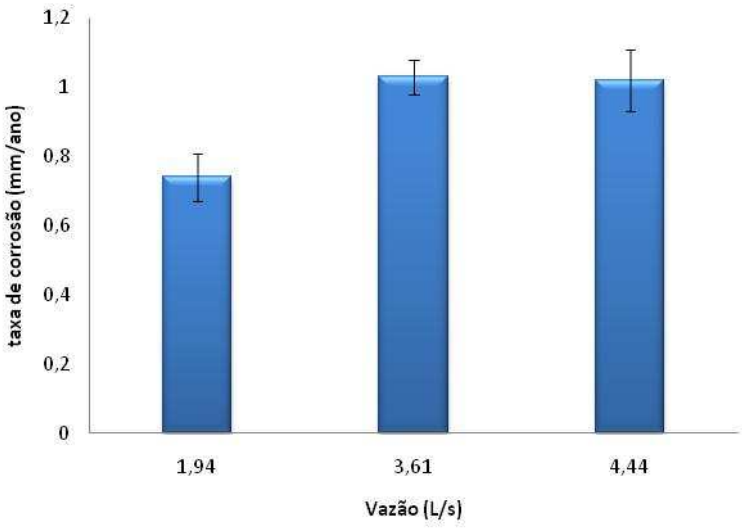



Figura 13 - Efeito de diferentes vazões na taxa de corrosão média por perda de massa ao final de 15 dias.

A taxa de corrosão constitui um parâmetro de grande importância para o acompanhamento do processo corrosivo em qualquer sistema. Esse parâmetro fornece informações acerca da intensidade e severidade do contínuo processo de deterioração ao qual um determinado sistema está submetido. O tempo de processo é um fator relevante nesse acompanhamento.

Segundo Torres, E. S. e De França, F. P. (2002), em seus experimentos, demonstraram que a adesão e o crescimento microbiano ocorreram desde o primeiro dia de exposição ao sistema aquoso. A concentração microbiana atingiu seu valor máximo após o terceiro dia de exposição, se estabilizando no quarto dia. Este resultado indica que nos primeiros dias ocorrem as etapas iniciais de fixação e formação de biomassa.

Eles observaram utilizando a técnica eletroquímica de análise por resistência a polarização, que a maior taxa de corrosão foi no início do processo, devido ao maior contato do oxigênio com o metal, seguida por uma diminuição até atingir o equilíbrio com a formação do biofilme e o consumo de oxigênio, voltando a aumentar no terceiro dia com a formação de um ambiente anaeróbio que favorece o crescimento das BRS.

Segundo os autores as taxas de corrosão obtidas por perda de massa, sofreram um processo corrosivo mais agressivo do que os que foram obtidos por resistência a polarização, comportamento explicado pelo fato de que os eletrodos realizam leituras

indiretas e não detecta a corrosão localizada provocada principalmente pela despolarização catódica causada pelas BRS.

## 5.2 - EXPERIMENTOS USANDO COMO FLUIDO CIRCULANTE ÁGUA DOCE + B3

Na Tabela 6 estão apresentados os resultados das quantificações iniciais dos micro-organismos planctônicos, nos respectivos fluidos: água doce e nas misturas de água doce + B3.

Tabela 6 - Análises microbiológicas dos micro-organismos planctônicos da água e nas misturas de água + B3 antes de iniciar o experimento

| **Micro-organismos** | **Água** | **10% de B3 + água** | **30% de B3 + água** | **60% de B3 + água** |
|---|---|---|---|---|
| Bactérias aeróbias totais (UFC/mL) | $5,3 \times 10^{3}$ | $1,8 \times 10^{8}$ | $4,8 \times 10^{8}$ | $4,9 \times 10^{10}$ |
| Ferrobactérias (UFC/mL) | $9,2 \times 10^{3}$ | $1,1 \times 10^{3}$ | $5,6 \times 10^{5}$ | $5,0 \times 10^{5}$ |
| BRS (NMP/mL) | < 10 | < 10 | 4,5 x10 | $1,4 \times 10^{5}$ |
| Bactérias anaeróbias totais (NMP/mL) | 0,4 x 10 | $1,4 \times 10^{5}$ | $1,4 \times 10^{10}$ | $2,9 \times 10^{9}$ |
| Fungos (UFC/mL) | 3,0 x 10 | $9,1 \times 10^{2}$ | $3,4 \times 10^{2}$ | $3,7 \times 10^{2}$ |
| Bactérias aeróbias produtoras de ácidos (NMP/mL) | 0.9 x 10 | $4,5 \times 10^{2}$ | $2,0 \times 10^{3}$ | $2,5 \times 10^{2}$ |
| Bactérias anaeróbias produtoras de ácidos (NMP/mL) | 0,9 x 10 | $1,1 \times 10^{3}$ | $1,5 \times 10^{4}$ | $1,6 \times 10^{6}$ |
| *Pseudomonas aeruginosa* (UFC/mL) | $2,9 \times 10^{2}$ | 3,0 x10 | $3,6 \times 10^{4}$ | $4,6 \times 10^{3}$ |

Nos experimentos conduzidos com água doce e água doce + 10% de B3 não foram observados o crescimento de bactérias redutoras de sulfato (BRS). No entanto nos experimentos conduzidos 30 e 60% de B3 os valores iniciais de BRS foram de 4,5 x 10 e 1,4 x $10^5$. Tabela 6. Uma análise qualitativa foi realizada no combustível para detecção da presença ou ausência de BRS e após análise foi verificada a ausência de crescimento no combustível. Embora não tenha sido possível quantificar as BRS, possivelmente estas bactérias estavam presentes em número bastante reduzido que não foi detectada pela técnica do número mais provável (NMP).

Nos experimentos conduzidos com as misturas de água doce + 10% de B3 e água doce + 30% de B3, houve um incremento significativo na população em relação, as concentrações estudadas (Figura 14). No experimento na mistura água doce + 30% de B3, havia uma pequena concentração de BRS planctônicas no início do experimento, Tabela 6, a quantificação das células sésseis ao final do experimento também foi muito baixa. No experimento a 60% que tinha uma contagem final significativa de 2,64 x $10^5$ de BRS, a taxa de corrosão calculada foi muito baixa, apesar de conter BRS aderida à superfície metálica (Figura 15). Este resultado pode ser explicado pela rápida formação de uma camada de óxidos na superfície do metal, provavelmente, devido ao alto nível de oxigênio no sistema conduzido em regime turbulento ou pela interação sinérgica entre os componentes dos combustíveis da mistura e água impedindo o ataque por BRS.

Para os demais grupos, houve um aumento populacional das bactérias pesquisadas, com exceção da *Pseudomonas aeruginosa* que permaneceu constante ao final de 15 dias e das bactérias aeróbias produtoras de ácidos que diminui no experimento conduzido a 60% de B3 quando comparado aos demais sistemas. Ocorreu também um aumento maior na concentração de anaeróbios em relação aos aeróbios, isso acontece provavelmente, devido ao grande consumo de oxigênio no início da formação do biofilme (VIDELA, H. A. 2003).

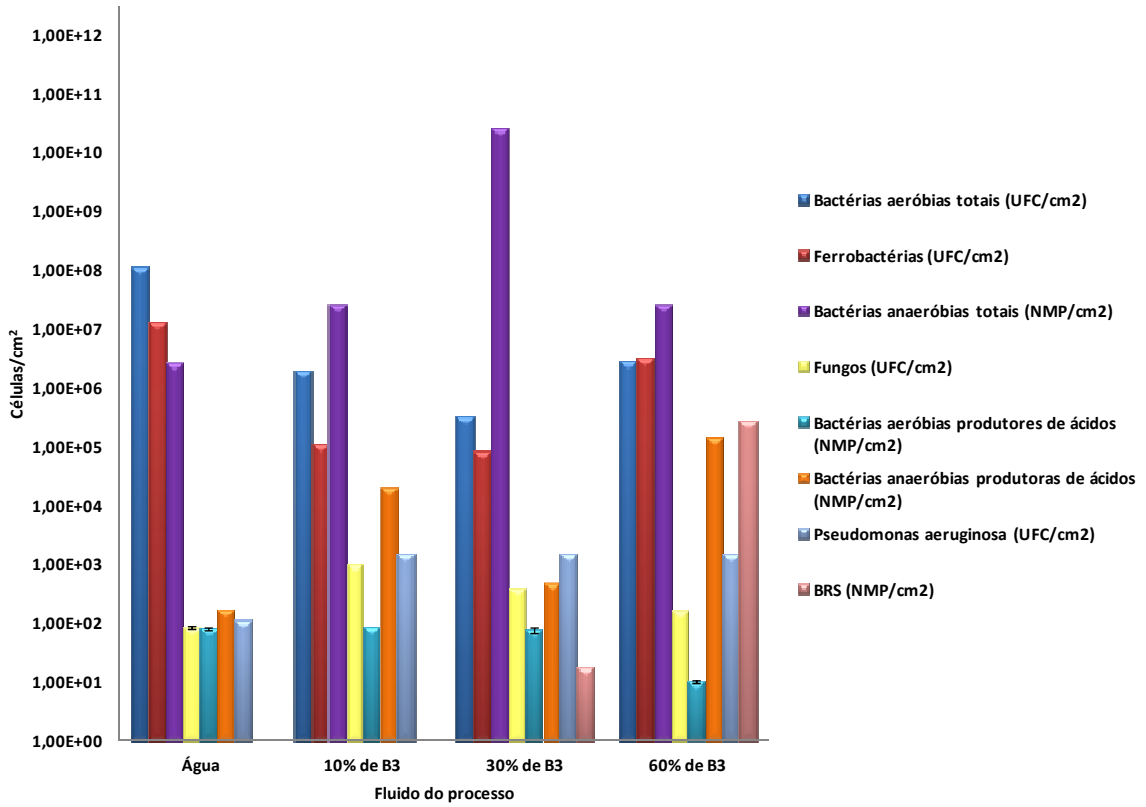



Figura 14 - Quantificação dos micro-organismos sésseis em ligas de aço carbono AISI 1020 ao final de 15 dias sob a vazão 1L/s em água e misturas de água doce + B3 nas concentrações de 10, 30 e 60%.

As BRS são bactérias que possuem a habilidade de reduzir o sulfato pela via desassimilativa com a finalidade de gerar energia para as reações de biossíntese relacionadas ao seu crescimento e manutenção com a produção de sulfeto de hidrogênio ($H_2S$). São bactérias heterotróficas anaeróbias estritas e, apesar dessa condição, são capazes de tolerar a presença de oxigênio em condições ambientais extremas (BEECH, I. B. e GAYLARDE, C. C. 1999; CETIN, D. e AKSU, M. L. 2009).

As BRS se destacam porque o processo biocorrosivo mediado por elas não está associado somente à formação de biofilmes, mas também a produção de metabólitos como $H_2S$ biogênico que geram graves problemas ambientais e de corrosão no processamento e armazenamento do petróleo e derivados.

Na Figura 14 pode-se observar ainda que nos 4 sistemas a concentração das ferrobactérias também variou, provavelmente, devido ao oferecimento de outros nutrientes. As bactérias são consideradas colonizadoras primárias de superfícies inanimadas em ambientes

naturais e sintéticos. A maioria das investigações de corrosão influenciada microbiologicamente está direcionada para o comportamento do biofilme de culturas puras ou mistas (BEECH, I. B. e SUNNER, J. 2004).

As ferrobactérias são bactérias Gram negativas e aeróbias estritas podendo atuar no processo corrosivo pela oxidação de íon ferroso, proveniente do ataque do material metálico, formando o íon férrico originando estruturas denominadas de tubérculos (De FRANÇA, F. P. e CRAVO W. B JR. 2000).

### 5.2.1 - Taxa de corrosão dos experimentos com B3

As taxas de corrosão calculadas estão apresentadas na Figura 15. A água doce se mostrou bastante corrosiva provalvemente devido à presença da grande quantidade de ferrobactérias aderidas (na ordem de $10^7$ células/$cm^2$). Outra explicação seria a ação combinada de solicitações mecânicas e o meio, nesse caso o metal em contato com água em movimento pode apresentar corrosão acelerada pela ação conjunta de fatores químicos e mecânicos como erosão (impingimento e cavitação) e o efeito do eletrólito na superfície metálica. Nos experimentos conduzidos com B3 houve uma diminuição das taxas de corrosão com o aumento da concentração do combustível explicado pela diminuição da condutividade do eletrólito, formação de produtos de corrosão e biofilmes que conferiu um caráter protetor.

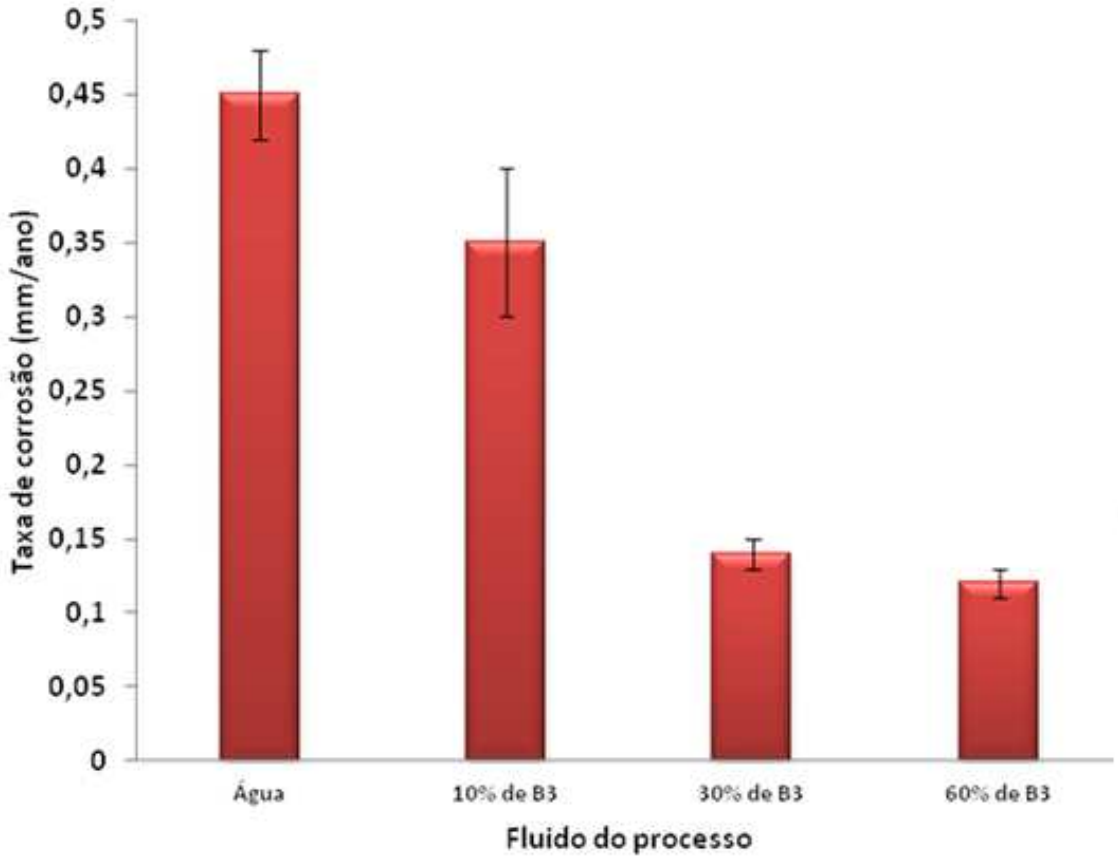



Figura 15 - Variação da taxa de corrosão de ligas de aço carbono AISI 1020 expostas em misturas de água doce + B3.

Ambrozin, A. R. P. et al, (2009), acreditam que misturas de diesel/biodiesel sejam menos corrosivas que o óleo diesel e biodiesel isoladamente. O diesel contendo compostos de enxofre poderá promover corrosão mais intensa, principalmente, em presença de micro-organismos como as BRS. Os resultados obtidos demonstram que o material foi protegido com o aumento da concentração do combustível, apesar da presença de ferrobactérias e BRS, micro-organismos aceleradores do processo de corrosão.

Outra explicação para o fenômeno, provavelmente, está relacionada à presença de *Pseudomonas aeruginosa* nos biofilmes. Estudos estão sendo desenvolvidos para avaliar a aplicabilidade de expolissacarídeos produzidos por essas bactérias na inibição do processo corrosivo (STADLER, R. et al, 2008; VIDELA, H. A e HERRERA, L. K. 2009). A quantificação de *Pseudomonas aeruginosa* foi realizada e verificou-se valores significativos nos biofilmes formados na superfície dos cupons expostos ao combustível, Figura 14.

### 5.2.2 - Análises dos produtos de corrosão formados na superfície do aço carbono AISI 1020 da água e nas misturas de água doce + B3

As análises de DRX dos produtos de corrosão formados nos corpos-de-prova apresentados nas Figuras 16, 17 e 18, após a exposição por um período de 15 dias para água doce e misturas água doce + 10 e 30% de B3. A análise não foi realizada para a concentração de 60% de B3.

Na Figura 16, os picos: 2,53; 2,24; 1,97; 1,72; 1,51 e 1,46 correspondem a β-FeOOH (Akaganeíta). Os picos: 2,53; 2,24; 1,97; 1,72 correspondem a α- FeOOH (Goethita) de estrutura romboédrica e os picos: 2,47; 1,97; 1,72; 1,51 e 1,46, correspondem a γ- FeOOH (Lepidocrocita) de estrutura também romboédrica. Além de todas as formas de óxidos hidratos de ferro, também foi verificada a presença de magnetita de estrutura cúbica ($Fe_3O_4$), picos: 2,53; 1,72; e 1,46.

Estudos realizados por microscopia eletrônica de varredura e DRX em água do mar confirmam que a goethita e lepidocrocita são as principais fases cristalinas da composição da ferrugem, que é uma mistura complexa de várias fases cristalinas de óxidos e hidróxidos de ferro cuja estequiometria corresponde, aproximadamente, à fórmula global FeOOH. Eles são principalmente responsáveis pela coloração (SANTOS, A. L. et al, 2008; DUAN JIZHOU, et al , 2008; OLIVEIRA, S. H. et al, 2008).

Duan, J. et al, (2008) evidenciaram a participação de biofilmes anaeróbios compostos por bactérias sulfato redutoras e bactérias redutoras de ferro, no processo da corrosão e na mineralização do ferrugem no aço carbono em ambientes marinhos e que em condições laboratoriais de simulação do ambiente marinho as medidas eletroquímicas indicaram que as bactérias sulfato redutoras sozinhas aceleram o processo corrosivo, quando misturadas com bactérias redutoras de ferro houve inibição do processo corrosivo. O principal mecanismo de inibição seria a formação de filme inorgânico composto principalmente pela ferrugem verde.

A ferrugem verde e os sulfetos de ferro são os principais componentes da camada interna da ferrugem aderidos no aço carbono. Eles são sais hidroxi-(Fe II-III) caracterizado por uma estrutura cristalina que consiste de camadas amontoadas de Fe $(OH)_2$ (PINEAU, S. et al, 2008). A ferrugem verde geralmente é convertida para formas mais estáveis como

goetita e lepidocrocita. Na corrosão microbiana a formação da ferrugem verde está relacionada à diminuição do sulfato em solução.

Nos experimentos conduzidos com água + B3 nas concentrações de 10 e 30%, além de todas as formas já identificadas na Figura 17, a adição do combustível favoreceu a formação de todas as formas de $Fe_xS_y$, silicatos, algumas formas $FePO_4$ e ludlamita ($Fe_3PO_4$). A formação desses compostos está possivelmente associada à presença de enxofre, fósforo e cinzas (OLIVEIRA, S. H. et al, 2008) presentes na mistura. Figuras 17 e 18.

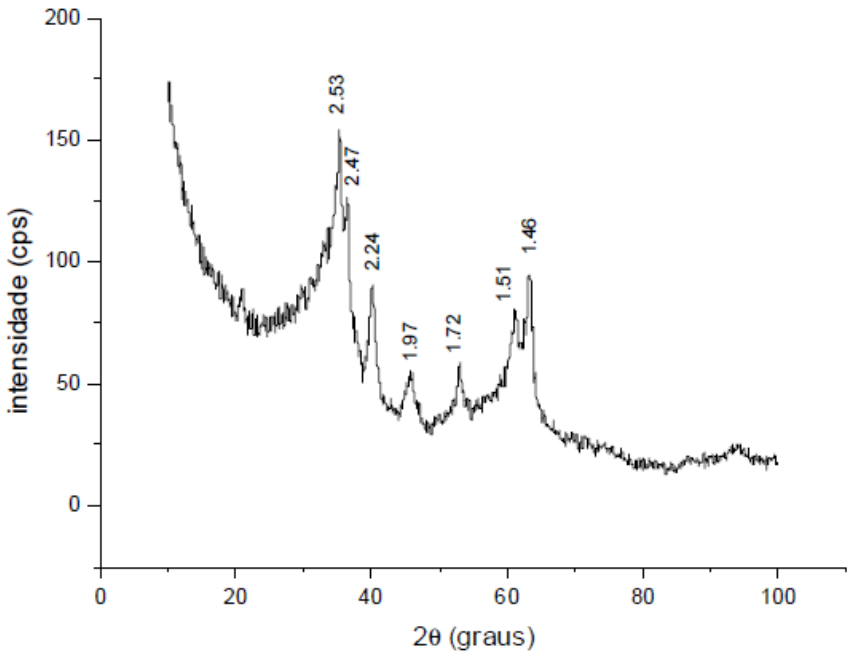



Figura 16 - Difratograma de Raios-X obtidos dos produtos de corrosão provenientes do corpo-de-prova submetido a um fluido de água doce, após um período de 15 dias. A ordenada indica a intensidade dos picos em contagem por segundo (cps) e na abscissa os números abaixo da identificação indicam a distância "d" (em Angstrons) características de cada fase cristalina.

Na Figura 17, além de todas as formas α - FeOOH (picos: 4,24; 2,60; 2,47; 2,26; 2,21; 2,04; 1,73 e 1,61), β-FeOOH (picos: 7,37; 2,60; 2,26; 2,34; 2,04; 1,73; 1,61 e 1,51) e γ-FeOOH ( picos: 2,47; 2,34; 2,04; 1,73; 1,57 e 1,51) e magnetita (picos: 3,00; 2,54; 2,47; 2,04; 1,73; 1,61), foram encontradas todas as formas de $Fe_xS_y$: Mackinwita (picos: 5,06; 2,60; 2,34; 1,73 e 1,57); jarosita (picos: 5,94; 5,06; 3,00; 2,26; 2,34; 1,99; 1,73; 1,81; 1,61

e 1,51); pirotita ( picos: 5,94; 3,00; 2,21; 2,04; 1,99 e 1,73) e greigita (picos: 3,00; 2,47; 2,26;1,99; 1,73 e 1,57). Faelita $(Fe, Mg)_2SO_4$ (picos: 3,80; 2,60; 2,47; 2,34; 2,21; 1,99; 1,73; 1,57; 1,81; 1,61 e 1,51). A presença de um silicato a enstatita $Mg_2(Si_2O_6)$ picos: 3,13; 2,47; 2,21; 1,99; 1,57; 1,81; 1,61 e 1,51 e também de hiperstênio $(Mg,Fe)_2Si_2O_6$ (picos: 6,37; 4,57; 2,73; 2,47; 2,21; 2,04; 1,99; 1,73; 1,57; 1,61 e 1,51).

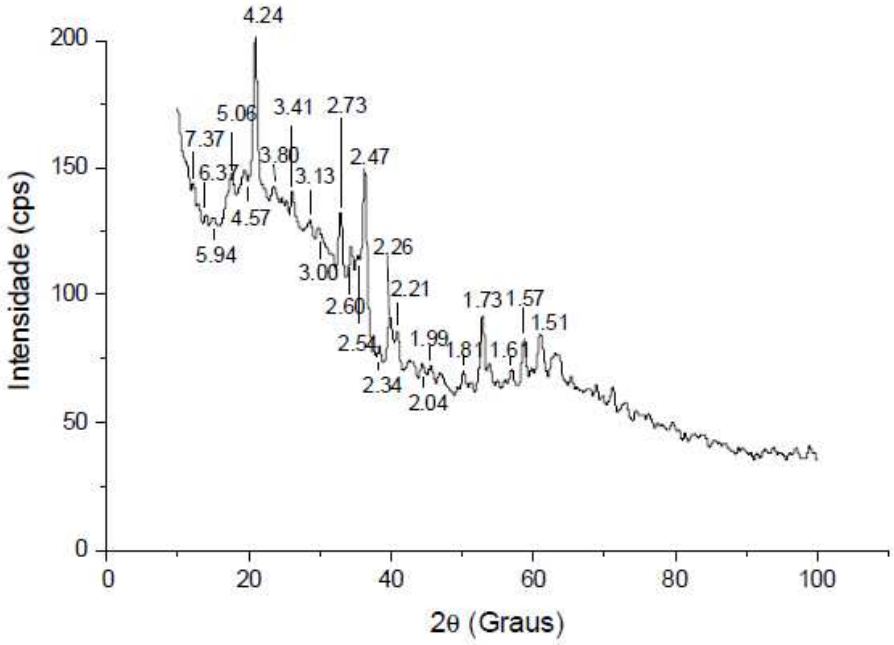



Figura 17 - Difratograma de Raios-X obtidos dos produtos de corrosão provenientes do corpo-de-prova submetido à mistura de água + 10% de B3, após um período de 15 dias. A ordenada indica a intensidade dos picos em contagem por segundo (cps) e na abscissa os números abaixo da identificação indicam a distância "d" (em Angstrons) características de cada fase cristalina.

Na Figura 18, além de todas as formas α - FeOOH (picos: 4,98; 4,25; 2,54; 2,47; 2,27; 2,20; 1,94; 1,78; 1,66; 1,57; 1,51; 1,45; 1,42; 1,39; 1,36; 1,32; 1,24 e 1,19) , β-FeOOH (picos: 3,33; 2,61; 2,54; 2,27; 2,10; 2,05; 1,94; 1,86; 1,73; 1,45; 1,42 e 1,37) e γ- FeOOH (picos: 2,47; 2,38; 2,10; 1,73; 1,57; 1,51; 1,45 e 1,42) e magnetita (picos: 2,54; 2,10; 1,73; 1,46; 1,32 e 1,28 ). Foram encontradas também todas as formas de $Fe_xS_y$: Mackinwita (picos: 4,98; 2,98; 2,61; 1,81; 1,73; 1,57; 1,51; 1,39; 1,30; 1,24; 1,23; 1,19; 1,17; 1,05; 1,02; 1,01); jarosita (picos: 5,76; 3,12; 2,98; 2,54; 2,38; 2,27; 1,94; 1,81; 1,78; 1,73; 1,66;1,57; 1,51; 1,46; 1,42; 1,39 e 1,32); pirotita (picos: 5,76; 3,45; 2,54; 2,05; 1,98; 1,78;

1,73; 1,46; 1,45; 1,42 e 1,32) e greigita (picos: 5,76; 2,98; 2,47; 2,27; 2,02; 1,73; 1,66; 1,57; 1,51; 1,46; 1,42; 1,39; 1,32; 1,28;1,23; 1,21; 1,19; 1,17; 1,15; 1,09; 1,05; 1,02; 1,01).

Nesta amostra também encontramos algumas formas de $FePO_4$ (picos: 6,41; 3,76; 3,45; 3,33; 3,12; 2,61; 2,27; 2,10; 1,94; 1,88; 1,86; 1,73; 1,57; 1,51; 1,46; 1,42; 1,20; 1,15; 1,13); $Fe_3(PO_4)_2.8H_2O$ (picos: 6,75; 4,98; 3,61; 3,33; 2,98; 2,72; 2,54; 2,20; 2,10; 2,02; 1,98; 1,94; 1,88; 1,81; 1,78; 1,66; 1,51; 1,46 e 1,45) e ludlamita $Fe_3(PO_4)_2.4H_2O$ (picos: 8,75; 3,76; 3,45; 3,33; 3,12; 2,98; 2,72 e 2,54).

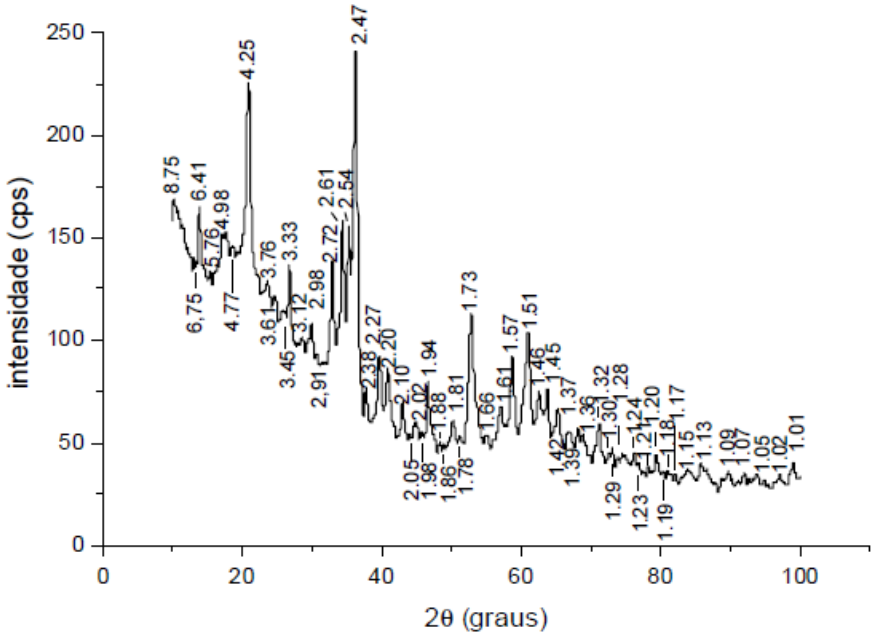



Figura 18 - Difratograma de Raios-X obtidos dos produtos de corrosão provenientes do corpo-de-prova submetido à mistura de água + 30% de B3, após um período de 15 dias. A ordenada indica a intensidade dos picos em contagem por segundo (cps) e na abscissa os números abaixo da identificação indicam a distância “d” (em Angstrons) características de cada fase cristalina.

### 5.2.3 - Adesão microbiana na superfície metálica das misturas de água doce + B3

Nas Figuras 19, 20 e 21 estão apresentadas a imagens obtidas por MEV que confirmam a adesão, crescimento e a formação de biofilmes na superfície do aço carbono AISI 1020 em todas as concentrações de B3 estudadas. Estes resultados corroboram com estudos

anteriores relatados na literatura (De FRANCA, F. P. et al, 2000; LOPES, F. A. et al, 2005; DUAN, J. et al, 2005).

Nas concentrações de 10, 30 e 60% de B3, Figuras 19, 20 e 21, visualiza-se um biofilme heterogênio, os diferentes aumentos confirmam esse comportamento. A presença de material polimérico facilitou na formação de agregados microbianos e no acúmulo de produtos de corrosão na superfície metálica.

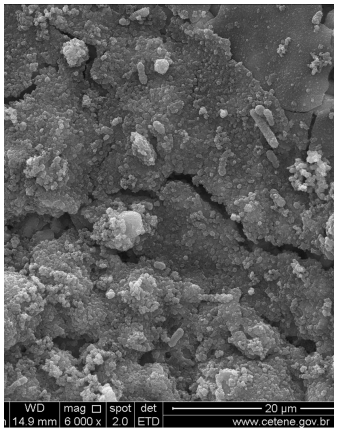



Figura 19 - Análise por MEV da formação de biofilme em aço carbono AISI 1020, exposto a uma mistura de água doce + 10% de B3 por um período de 15dias. Aumento de 6000x.

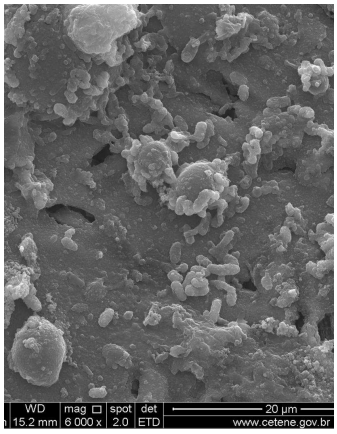



Figura 20 - Análise por MEV da formação de biofilme em aço carbono AISI 1020, exposto a uma mistura de água doce + 30% de B3 por um período de 15 dias. Aumento de 6000x.

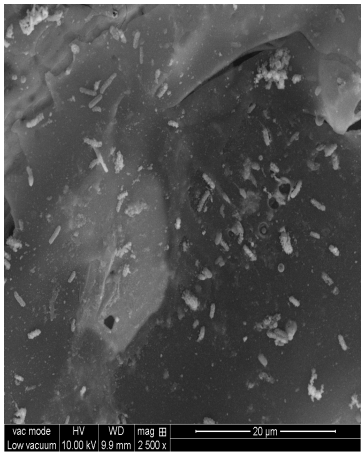



Figura 21 - Análise por MEV da formação de biofilme em aço carbono AISI 1020, exposto a uma mistura de água doce + 60% de B3 por um período de 15 dias. Aumento de 2500x.

### 5.2.4 - Avaliação da biodegradação das misturas de água doce + B3

Nos cromatogramas apresentados nas Figuras 22, 23, 24, 25, 26 e 27 estão apresentados os resultados das análises realizadas no efluente líquido das misturas de água + B3.

Na mistura de água doce adicionada de B3 a 10%, foi verificada a presença de hidrocarbonetos lineares n-C9 a n-C20. Esses compostos estão presentes na fração diesel dos combustíveis. Compostos insaturados também foram detectados nos cromatogramas, apresentando-se ao lado dos compostos saturados de peso molecular equivalente. Somente foi possível detectar esses compostos alifáticos, devido ao método de extração, da análise cromatográfica empregada e padrão utilizado. Após 15 dias de experimento houve biodegradação total, como pode ser evidenciado na comparação dos cromatogramas nas Figuras 22 e 23.

Quando a concentração foi aumentada para 30% de B3, foi verificada a presença dos mesmos hidrocarbonetos, mas a degradação não foi total em 15 dias de processo, como pode ser notado pela comparação das Figuras 24 e 25. Esse comportamento foi semelhante no experimento adicionado de B3 a 60%. Figuras 26 e 27.

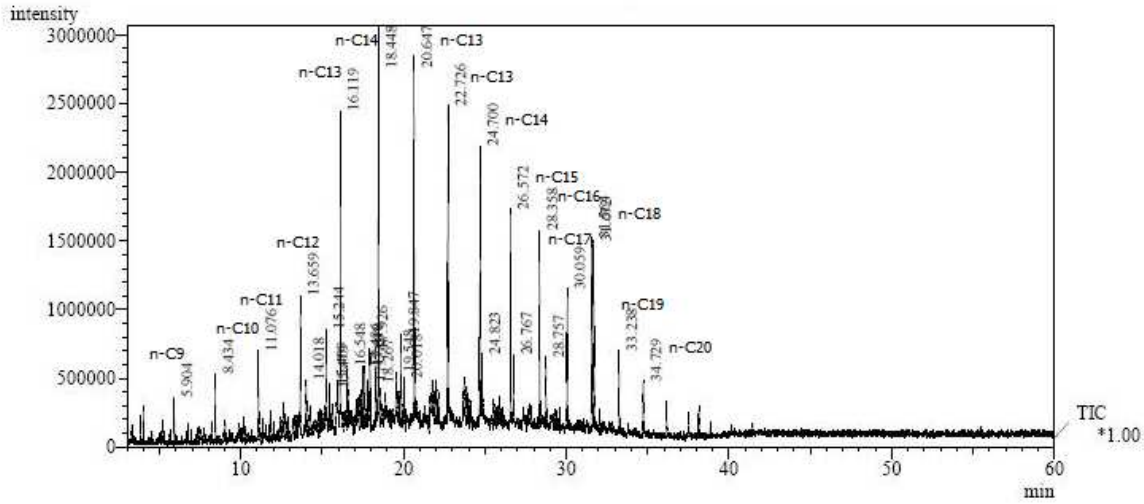



Figura 22 - Cromatograma obtido da mistura de água doce + 10% de B3 antes de iniciar o experimento. A ordenada expressa a intensidade em quantidade de íons e a abscissa o tempo de retenção em minutos.

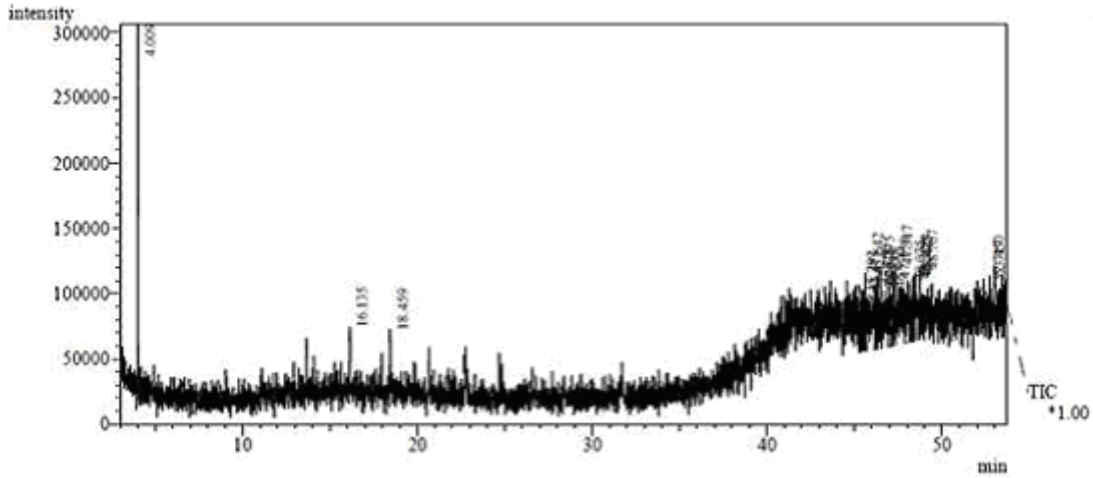



Figura 23 - Cromatograma obtido da mistura de água doce + 10% de B3 após 15 dias. A ordenada expressa a intensidade em quantidade de íons e a abscissa o tempo de retenção em minutos.

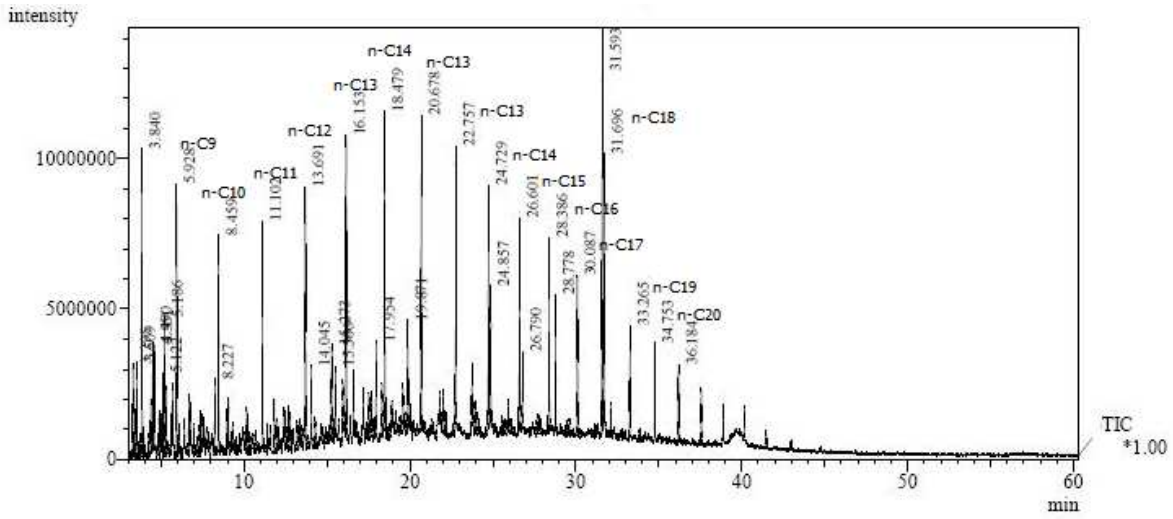



Figura 24 - Cromatograma obtido da mistura de água doce + 30% de B3 antes de iniciar o experimento. A ordenada expressa a intensidade em quantidade de íons e a abscissa o tempo de retenção em minutos.

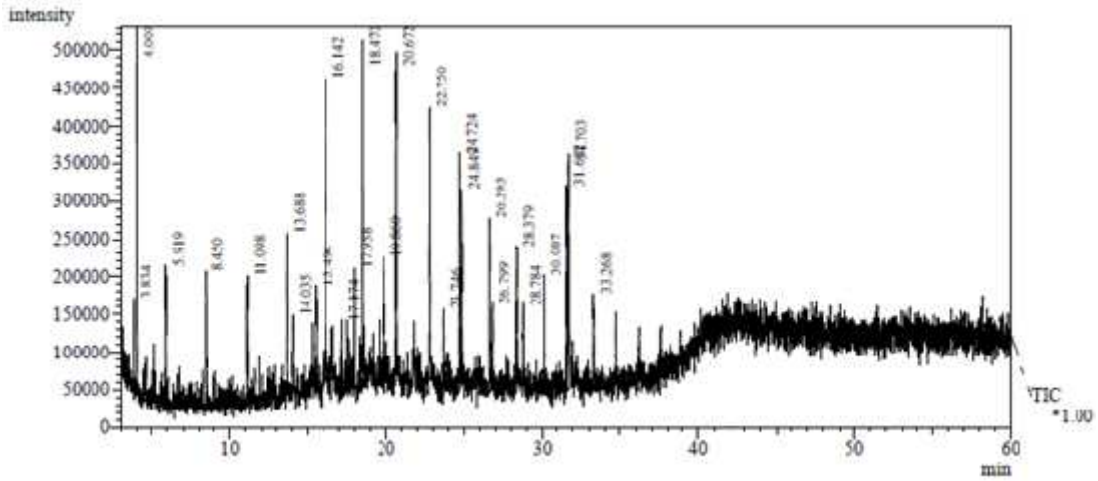



Figura 25 - Cromatograma obtido da mistura de água doce + 30% de B3 após 15 dias. A ordenada expressa a intensidade em quantidade de íons e a abscissa o tempo de retenção em minutos.

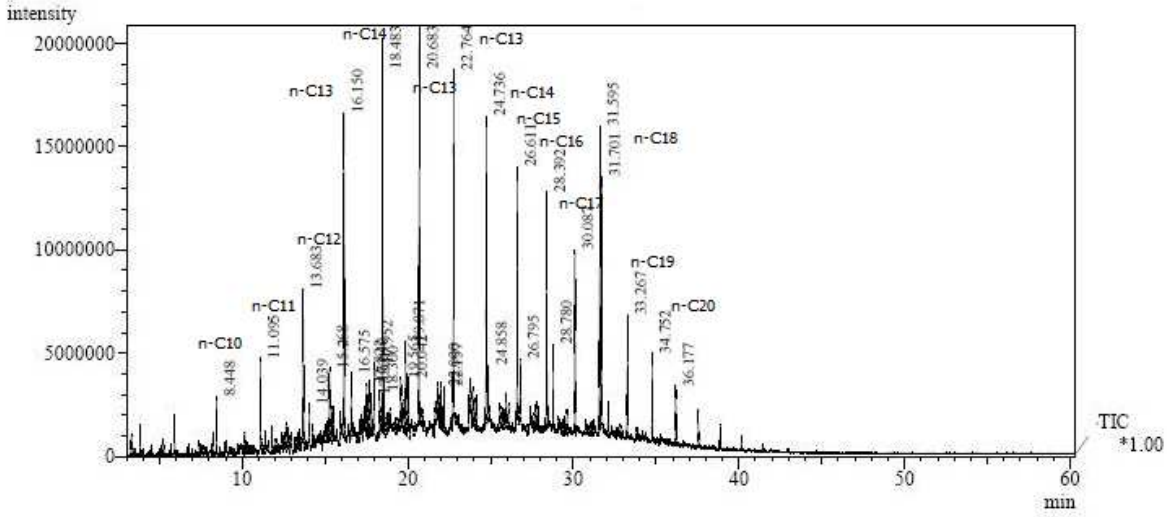



Figura 26 - Cromatograma obtido da mistura de água doce + 60% de B3 antes de iniciar o experimento. A ordenada expressa a intensidade em quantidade de íons e a abscissa o tempo de retenção em minutos

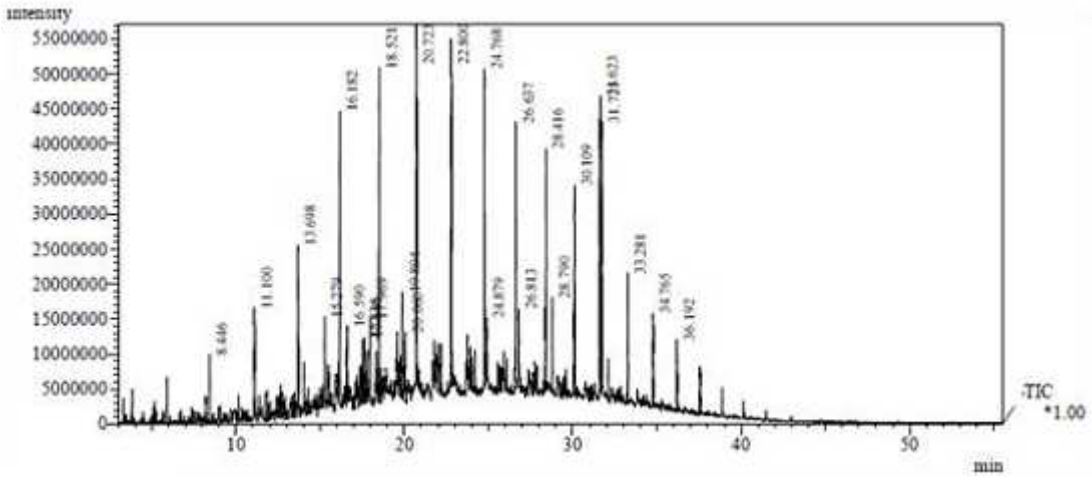



Figura 27 - Cromatograma obtido da mistura de água doce + 60% de B3 após 15 dias. A ordenada expressa a intensidade em quantidade de íons e a abscissa o tempo de retenção em minutos

A comparação das Figuras 23, 25 e 27 permite evidenciar que quanto maior a quantidade inicial de hidrocarbonetos, maior a quantidade remanescente destes compostos em 15 dias de processo. Dado que não se dispunha, à época dos testes, de padrões primários e secundários para a construção de curva de calibração com parafinas, não se pôde

quantificar o remanescente dos compostos. Testes cromatográficos adicionais são requeridos para quantificação de cada um dos compostos detectados.

Os resultados obtidos corroboram por Del Arco, J. P. e De França, F. P. (1999) que reportam efeito deletério do aumento da concentração de hidrocarbonetos sobre biodegradação destes compostos, em solos. Considerando que, ainda, não foram realizadas etapas para quantificação, não se pode inferir sobre a influência desse parâmetro na taxa de biodegradação. No entanto, ao se comparar os dados de perda de massa e de taxa de corrosão pode ser verificado que o aumento da concentração de hidrocarbonetos no meio desfavoreceu a biocorrosão, provavelmente pelo aumento da população degradadora de hidrocarbonetos e produção de surfactantes que podem ter propiciado o descolamento de biofilmes das superfícies metálicas testadas. Pode-se considerar ainda que, o fato da quantidade de material orgânico na interface óleo e água, ter sido maior que na superfície dos cupons metálicos, logo, o fluxo da biomassa do seio da água para interface com o óleo fica favorecido, dado que os micro-organismos tendem a buscar a fonte de carbono, contribuindo, assim, para a redução das taxas de corrosão.

As Figuras 23, 25 e 27 apresentam, ainda, uma elevação da linha de base, que contém uma mistura de compostos não resolvidos (MCNR), resultantes da biodegradação parcial dos hidrocarbonetos, sendo essa mais uma evidência da biodegradação.

## 5.3 - EXPERIMENTOS USANDO COMO FLUIDO CIRCULANTE ÁGUA DOCE + B5

Os resultados das quantificações iniciais das principais bactérias envolvidas nos processos de corrosão na água e em todas as misturas de B5 antes de iniciar os experimentos podem ser observados na Tabela 7.

Tabela 7 - Análises microbiológicas dos micro-organismos planctônicos da água doce e das misturas água + B5 antes de iniciar os experimentos

| Micro-organismos | Água | 10% diesel/biodiesel + água | 30% diesel/biodiesel + água | 60% diesel/biodiesel + água | 80% diesel/biodiesel + água |
|---|---|---|---|---|---|
| Bactérias aeróbias totais (UFC/mL) | $9,3x10^7$ | $1,9x10^9$ | $3,4x10^3$ | $3,0x10^4$ | $1,1x10^5$ |
| Ferrobactérias (UFC/mL) | $1,0x10^6$ | $1,5x10^9$ | $3,4x10^3$ | $2,9x10^2$ | $2,4x10^4$ |
| BRS (NMP/mL) | 2,5x10 | 7,5x10 | $4,5\ x10^2$ | 0,9x10 | 1,1x10 |
| Bactérias anaeróbias totais (NMP/mL) | $2,0x10^9$ | $1,4x10^{10}$ | $1,4x10^{10}$ | $1,4x10^{10}$ | $4,5x10^6$ |
| Fungos (UFC/mL) | 3,5x10 | $4,1\ x10^2$ | $2,3x10^2$ | 2,5x10 | $1,9x10^2$ |
| Bactérias aeróbias produtoras de ácidos (NMP/mL) | $7,0x10^2$ | $2,0x10^4$ | 4,5x10 | 2,0x10 | $0,7x10^5$ |
| Bactérias anaeróbias produtoras de ácidos (NMP/mL) | 9,5x10 | $9,5x10^3$ | $1,5x10^2$ | 3,0x10 | $2,4x10^4$ |
| *Pseudomonas aeruginosa* (UFC/mL) | $1,6x10^4$ | $7,5x10^5$ | 1,5x10 | 1,0x10 | $1,1x10^2$ |

As concentrações iniciais dos micro-organismos planctônicos quantificados foram maiores que $10^2$, com exceção das BRS, fungos, bactérias aeróbias produtoras de ácidos, bactérias anaeróbias produtoras de ácidos e P*seudomonas aeruginosa* que apresentaram contagens baixas nas concentrações de 10, 30 e 60% de B5. Tabela 7.

Nos experimentos conduzidos com combustível B5, quando comparados aos conduzidos com combustível B3, observa-se um comportamento semelhante. Houve um aumento significativo no crescimento de todos os micro-organismos sésseis ao final de 15 dias, destacando-se as bactérias aeróbias totais com concentrações acima de $10^{10}$ e as BRS que estavam presentes em todas as condições estudadas. Nas concentrações de 10 e 80% de B5 a concentração de BRS foi 2,6 x $10^5$ e 7,0 x $10^5$, respectivamente. Nos experimentos com B5 não foi detectada a presença *Pseudomonas aeruginosa* ao final de 15 dias, isso

pode ser explicado pela variação da temperatura em nossos sistemas, *a Pseudomonas aeruginosa* só consegue tolerar temperaturas até 42ºC. Figura 28.

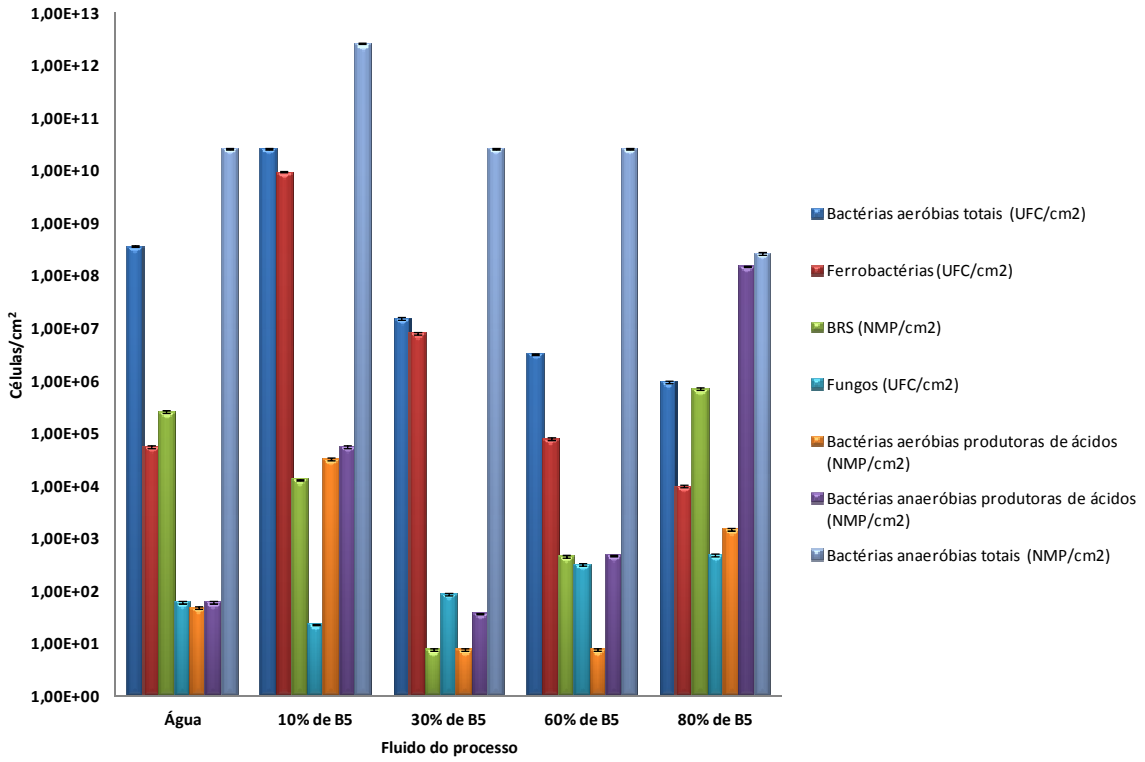



Figura 28 - Quantificação dos micro-organismos sésseis em ligas de aço carbono AISI 1020 ao final de 15 dias sob a vazão de 1L/s em água e misturas de água doce + B5 nas concentrações de 10, 30, 60 e 80%.

### 5.3.1 - Taxa de corrosão dos experimentos com B5

Na Figura 29 está apresentado o resultado das taxas de corrosão. Os resultados demonstram que adição de 5% de biodiesel ao diesel teve um efeito positivo para a redução das taxas de corrosão quando comparados com experimentos conduzidos com B3, mesmo na presença BRS e ferrobactérias em todas as concentrações estudadas, as taxas de corrosão foram inferiores a 0,21mm/ano. Água doce também apresentou um efeito corrosivo agressivo, já evidenciado nos experimentos conduzidos com B3.

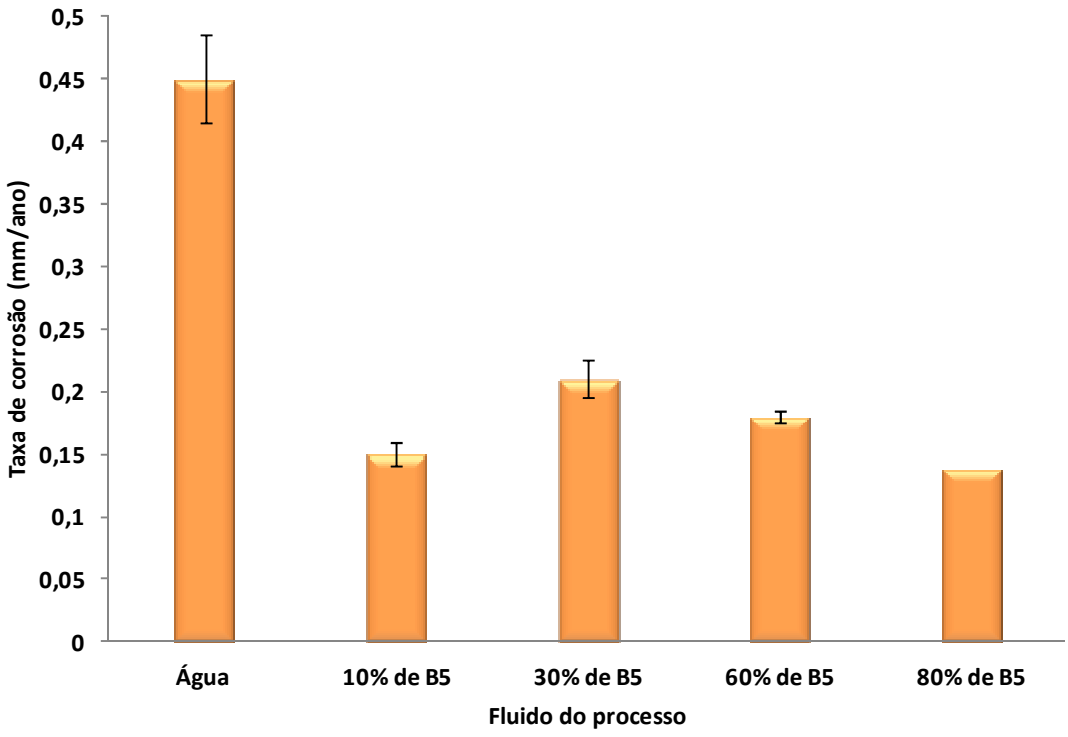



Figura 29 - Variação da taxa de corrosão de ligas de aço carbono AISI 1020 expostas em misturas de água doce + B5.

Ambrozim, A. R. P. et al, (2010), em ensaios de corrosão galvânica (os pares galvânicos utilizados foram aço 1010-aço 420 e aço 1010-liga Alumínio-cobre) e ensaios de corrosão por frestas, os autores concluíram que aço carbono não sofreu corrosão galvânica nas misturas de B5 e B20, para o B3 a taxa de corrosão foi muito baixa, em torno de 0,00006mm/ano. Nos ensaios por frestas foi observado que no diesel e no biodiesel puro, não apresentaram taxas de corrosão significativas. No entanto, nas misturas B3 e B5 observou-se corrosão nos corpos-de-prova, sugerindo uma ação sinergista entre os dois combustíveis (aço carbono SAE 1010 B3-0,0003mm/ano e B5-0,0001mm/ano).

Estudos publicados recentemente comparando as características corrosivas do biodiesel e do diesel isoladamente, relatam que a corrosão por biodiesel pode ser agravada na presença de água porque ele tem a capacidade de absorção maior quando comparado com diesel, essa água tende a condensar na superfície do metal causando corrosão. A auto-oxidação do biodiesel também pode aumentar suas características corrosivas. O ferro, o alumínio e o cobre são mais suscetíveis ao ataque do biodiesel. Na oxidação do biodiesel

os ésteres podem ser convertidos em diferentes ácidos mono-carboxilicos, tais como, ácido fórmico, ácido acético e ácido propionico que são responsáveis pelo aumento do processo corrosivo. Os estudos concluem que biodiesel foi mais corrosivo do que diesel (FAZAL, M. A. et al, 2010; FAZAL, M. A. et al, 2011). Os pesquisadores demonstraram que o aumento da temperatura também aumentava o efeito corrosivo do biodiesel quando comparado ao diesel, eles atribuíram esse aumento da corrosão a uma rápida formação e dissolução dos produtos de corrosão na superfície do metal. Nos estudos de corrosão utilizando aço inox os resultados foram desprezíveis, em torno de 0,0004mm/ano com 50 dias de processo para biodiesel.

### 5.3.2 - Análise dos produtos de corrosão das misturas de B5 formados na superfície do aço carbono AISI 1020 por energia dispersiva (EDS)

As imagens e espectros obtidos por MEV-EDS podem ser observadas nas Figuras 30, 31, 32, 33 e 34. Quando se compara com o branco no início do experimento observar-se uma diminuição na concentração de ferro na superfície da amostra (Figura 30). Isso pode ser explicado pela formação de material biológico e acúmulo de produtos de corrosão na superfície do aço carbono.

Os grandes picos de carbono e oxigênio em todas as condições estudadas corroboram para explicar essa diminuição do ferro. Ocorreu a dissolução do ferro e outras reações de deterioração do aço carbono, levando consequentemente a formação de óxidos e/ou hidróxidos de ferro. Esses resultados estão de acordo com análises de DRX realizadas nas misturas de água + B3 apresentados e discutidos anteriormente.

Os picos de carbono e oxigênio observados nos resultados dos espectros evidenciam a formação do biofilme na superfície do metal, assim como a formação de material inorgânico. A baixa concentração de enxofre pode ser explicada pelo consumo do sulfato presente no fluido, pelas bactérias sulfato redutoras. Esses resultados corroboram com os encontrados na literatura (CONGNIN XU et al 2007; JEFFREY, R. e MELCHERS, R. E. 2003).

Outro fato a ser destacado é que algumas bactérias aumentam significativamente a corrosão quando se desenvolvem em um biofilme aeróbico, que domina a corrosão durante os primeiros estágios de acúmulo do biofilme, depositando hidróxidos de ferro

(principais produtos da corrosão) que são facilmente transformados em sulfeto de ferro (FeS), causando uma maior corrosão do metal devido à atividade das bactérias. Em um biofilme totalmente anaeróbico, a natureza e extensão da corrosão estão intimamente ligadas ao acúmulo de sulfeto de ferro dentro do biofilme (RÉMAZEILLES, C. et al, 2009).

As Figuras 35, 36, 37 e 38 confirmam a adesão, o crescimento e formação de biofilmes na superfície do aço carbono AISI 1020. Os diferentes aumentos confirmam a presença de material polimérico, produtos de corrosão e células microbianas agregadas e isoladas. As bactérias são consideradas colonizadoras primárias de superfícies inanimadas em ambientes naturais e sintéticos. A maioria das investigações de corrosão influenciada microbiologicamente está direcionada para o comportamento do biofilme de culturas puras ou mistas na corrosão de superfícies de ferro, cobre, alumínio e outras ligas (Beech e Sunner 2004).

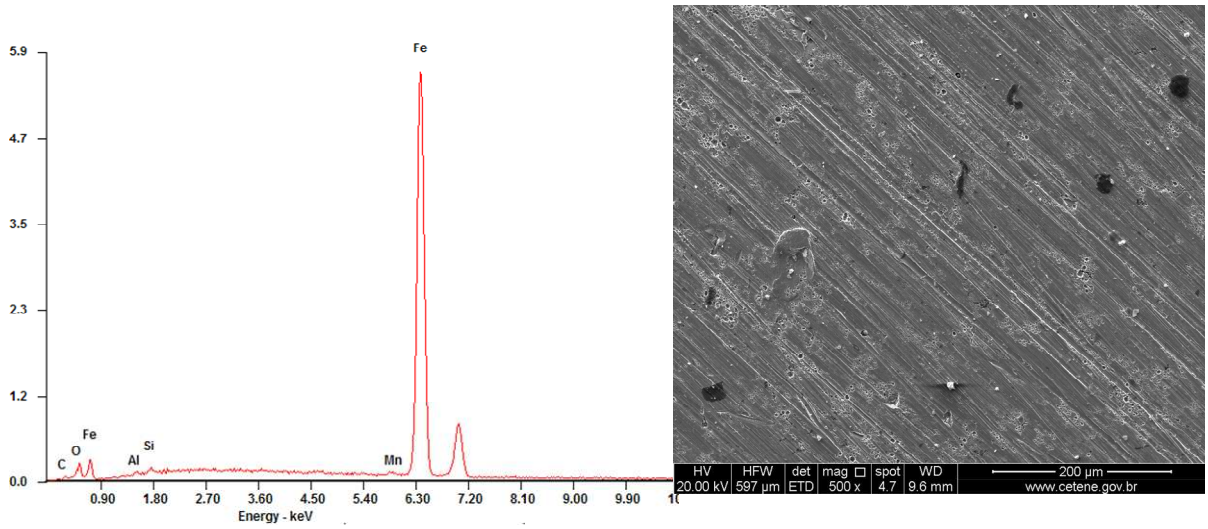



Figura 30 - Espectro geral (EDS) da superfície do aço carbono AISI 1020 antes de iniciar o experimento. A ordenada expressa a contagem acumulada em determinado tempo e a abscissa a energia em keV.

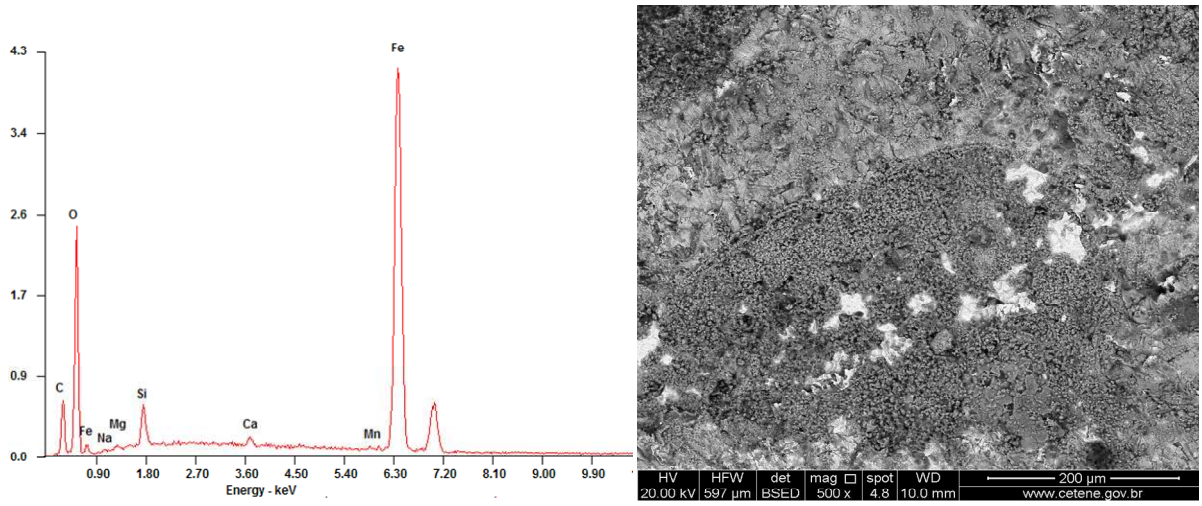



Figura 31 - Espectro geral (EDS) dos produtos de corrosão formados na superfície do aço carbono AISI 1020 na mistura água + 10% de B5 ao final de 15 dias. A ordenada expressa a contagem acumulada em determinado tempo e a abscissa a energia em keV.

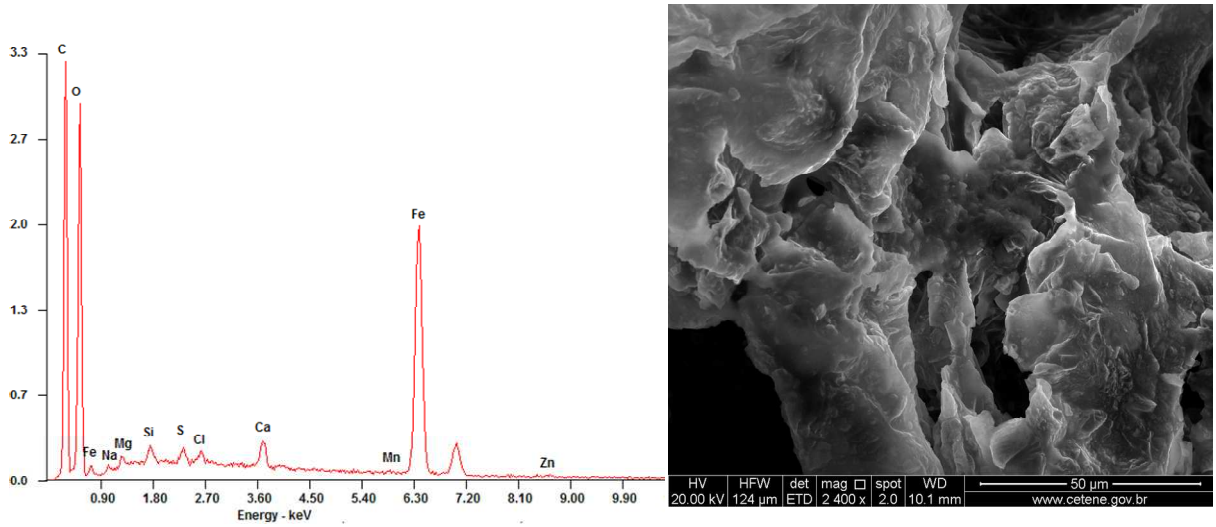



Figura 32 - Espectro geral (EDS) dos produtos de corrosão formados na superfície do aço carbono AISI 1020 na mistura água + 30% de B5 ao final de 15 dias. A ordenada expressa a contagem acumulada em determinado tempo e a abscissa a energia em keV.

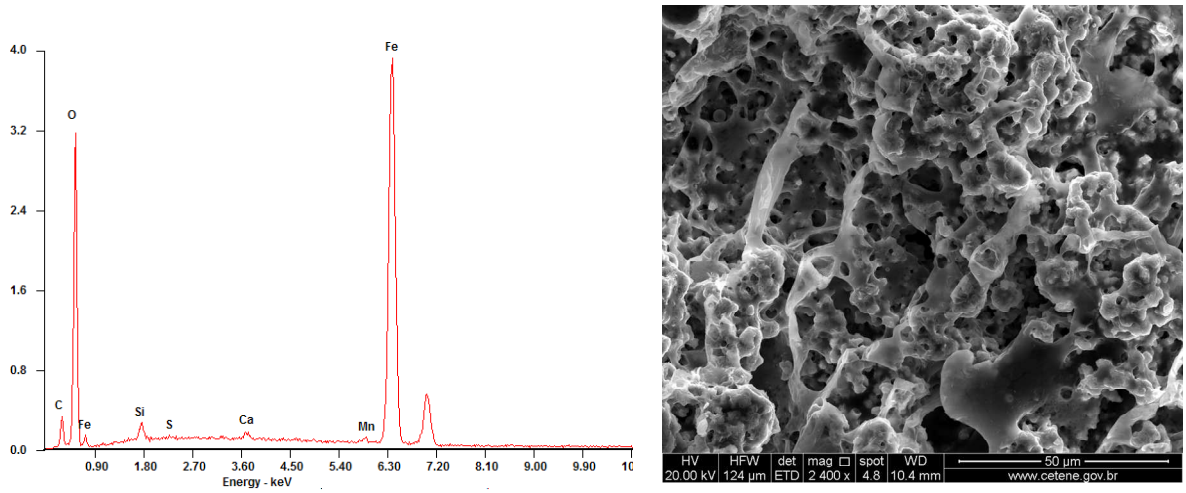



Figura 33 - Espectro geral (EDS) dos produtos de corrosão formados na superfície do aço carbono AISI 1020 na mistura água + 60% de B5 ao final de 15 dias. A ordenada expressa a contagem acumulada em determinado tempo e a abscissa a energia em keV.

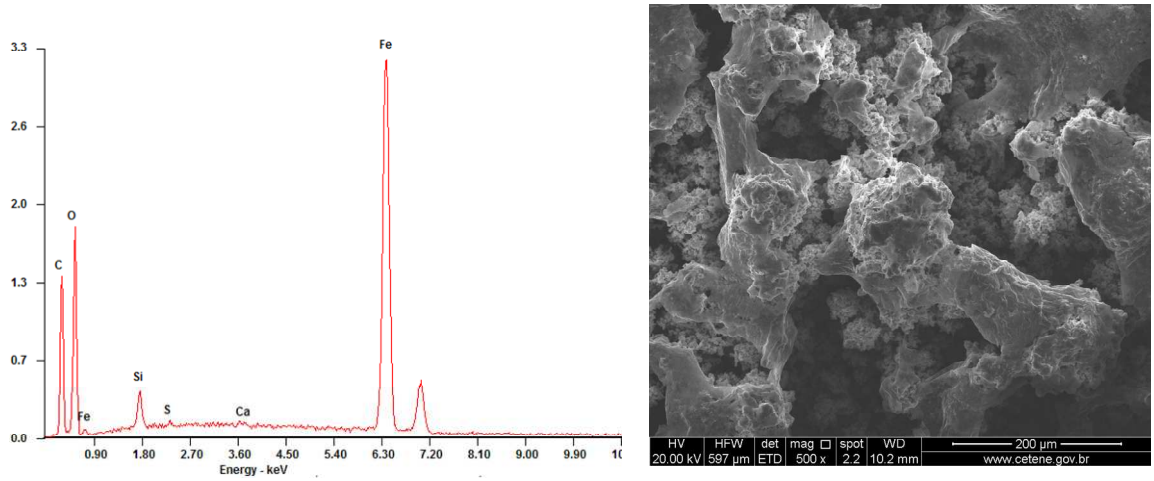



Figura 34 - Espectro geral (EDS) dos produtos de corrosão formados na superfície do aço carbono AISI 1020 na mistura água + 80% de B5 ao final de 15 dias. A ordenada expressa a contagem acumulada em determinado tempo e a abscissa a energia em keV.

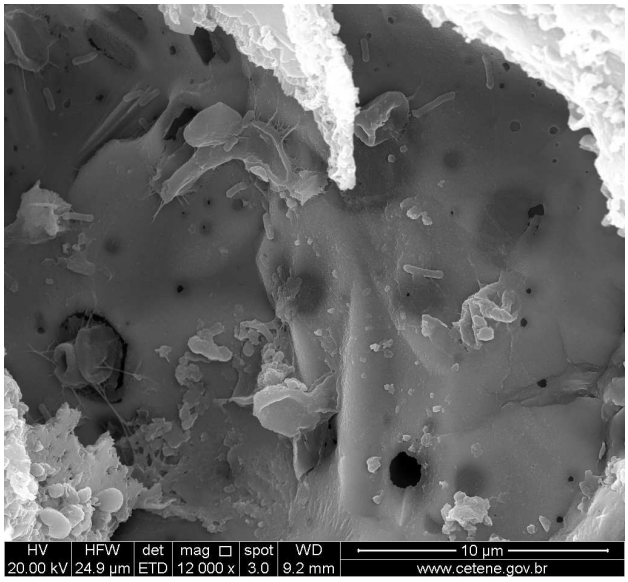



Figura 35 - Análise por MEV da formação de biofilme em aço carbono AISI 1020 exposto a uma mistura de água doce + 10% de B5 ao final de 15 dias. Aumento de 12000x.

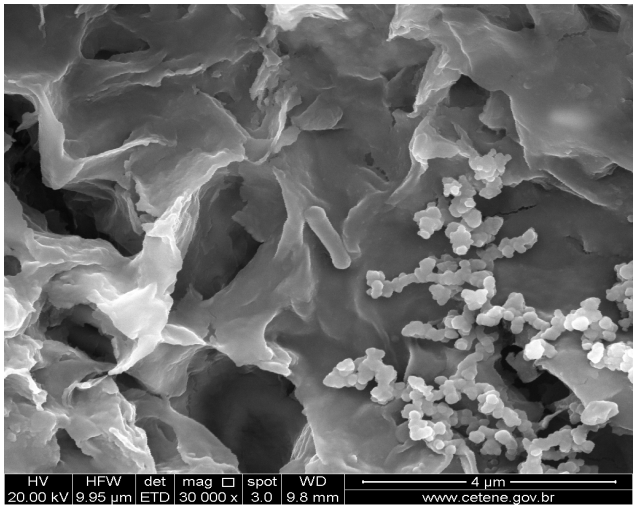



Figura 36 - Análise por MEV da formação de biofilme em aço carbono AISI 1020 exposto a uma mistura de água doce + 30% de B5 ao final de 15 dias. Aumento de 30000x.

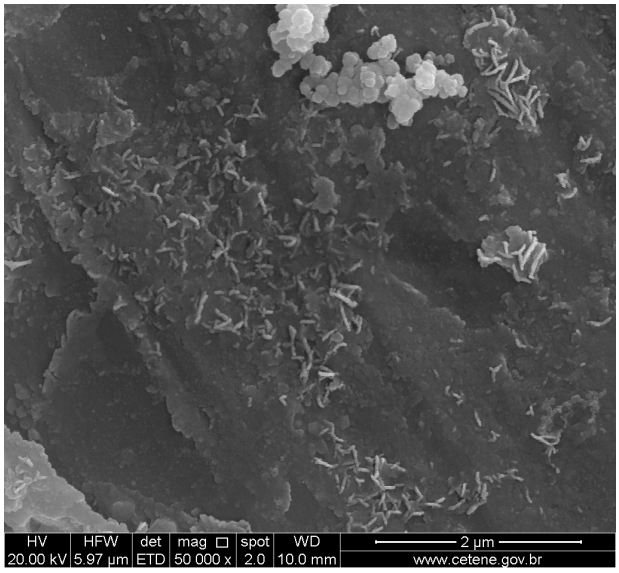



Figura 37 - Análise por MEV da formação de biofilme em aço carbono AISI 1020 exposto a uma mistura de água doce + 60% de B5 ao final de 15 dias. Aumento de 50000x.

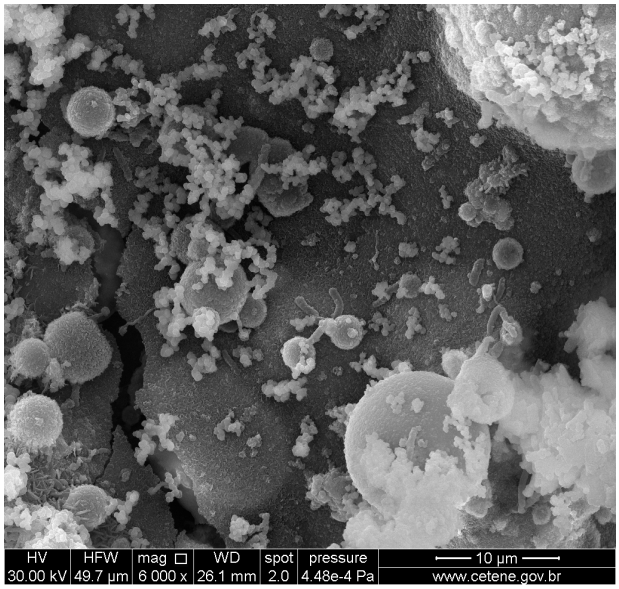



Figura 38 - Análise por MEV da formação de biofilme em aço carbono AISI 1020 exposto a uma mistura de água doce + 80% de B5 ao final de 15 dias. Aumento de 6000x.

### 5.3.3 - Estudo da biodegradação de HPA, BTEX E TPH nas misturas de água doce + B5

Os resultados da degradação dos HPA presentes na mistura de B5 estão apresentados nas Tabelas 8, 9 e 10. O naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno e pireno tiveram um percentual de degradação acima de 50% nas condições estudadas, com exceção dos experimentos desenvolvidos com 10% de B5, o fluoranteno e pireno tiveram um percentual de degradação de 21 e 30%, respectivamente. Os resultados demonstraram que os consórcios microbianos em condições de aerobiose e anaerobiose podem ser uma alternativa promissora para degradar hidrocarbonetos de efluentes contendo a mistura de diesel/biodiesel em sistema de *Looping* fechado. Apesar do diesel apresentar um maior peso molecular seus componentes são menos voláteis e menos solúveis em água. O biodiesel presente na mistura pode alterar ou induzir dispersões do diesel na água contribuindo para o fenômeno dispersão/emulsão no sistema aquoso facilitando a biodegradação (OWKOLAJ, M. et al, 2009; PRINCE, R. C. et al, 2008). A liberação dos HPAs no ambiente é comum por estar relacionada à combustão incompleta dos motores a diesel e sua presença em ambientes industriais está relacionada a derramamentos e vazamentos em tanque de armazenamentos.

Alguns autores defendem que a biodegradação depende do tipo de consórcio microbiano escolhido e que a presença do biodiesel não afeta o consórcio microbiano, quem determina a fonte de carbono que vai usar é o micro-organismo. (OWKOLAJ, M. et al, 2009; CYPLIK, P. et al, 2011). Bucker, F. et al, (2011) confirmaram a hipótese de que adição de biodiesel no óleo diesel aumenta a sua biodegrabilidade a partir de experimentos em diversas proporções da mistura óleo diesel/biodiesel utilizando fungos isolados de sistemas contaminados.

HPAs são compostos tóxicos e compõem moléculas de interesse ambiental em solos impactados (HARITASHI. A. K. and KAUSHIP, C. P. 2009) e sua biodegradação depende de muitos fatores como biodisponibilidade, muito influenciada pela matriz e intemperismo do contaminante. Verificou-se que os HPAs monitorados de menor massa molecular, ou seja, aqueles com dois e três anéis condensados foram biodegradados em maior quantidade que aqueles de maior massa molecular, ou seja, com quatro anéis.

Este comportamento pode estar relacionado com a hidrofobicidade dos HPAs de maior massa molecular. O Fluoranteno e o Pireno apresentam Kow (coeficiente de partição octanol água) de 5,22 e 5,18, respectivamente, e o Naftaleno, 3,4. Assim, o Fluoranteno e o Pireno tendem a permanecer na fase oleosa, ao contrário dos demais HPAs que são transferidos com mais facilidade à fase aquosa, rica em micro-organismos degradadores, ficando mais disponíveis à ação microbiana.

Os resultados obtidos nesta pesquisa corroboram aqueles apresentados por Oliveira, F. J. S. e De França. F. P. (2005), Vasconcelos, U. et al, (2011) e referência por eles citadas, que evidenciaram biodegradação de HPA de baixa massa molecular e reminiscência de HPA de maior massa molecular. Mesmo assim, cabe destacar que os sistemas estudados pelos autores já mencionados não incluem a presença do biodiesel, o que torna os nossos resultados inovadores.

A biodegradação dos BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno, m, p-xilenos e o-xileno) estão apresentados nas Tabelas 11, 12 e 13. O percentual de biodegradação obtido foi acima de 40% em todas as concentrações estudadas, com exceção do m, p-xilenos e o-xileno que apresentaram um percentual de degradação 26 e 16%, respectivamente, na concentração de 60%.

Mello, J. M. M. et al, (2010), em seus estudos empregaram modelos matemáticos na biodegradação de BTEX em efluentes oriundos da indústria petroquímica demonstraram que é vantajosa a utilização de biofilme em reator porque neste sistema há uma grande concentração de biomassa com uma alta atividade biológica. A porosidade, área do biorretor e um tempo mínimo de residência influenciam na biodegradação dos BTEX.

Vieira, P. A. et al, (2007), utilizando efluentes sintéticos oriundos de terminais de combustíveis demonstraram que a redução dos BTEX em reatores aerados e agitados aos final de 49 dias de processo foi entre 45 a 50% em relação a concentração inicial.

Morlett-Chávez, J. A. et al, (2010), utilizando um consórcio microbiano e bactérias isoladas do mesmo consórcio avaliaram a biodegradação dos BTEX em gasolina. Os BTEX correspondem a quase 90% dos compostos presentes na sua composição. O consórcio degradou 99,8% dos BTEX com 60 horas de processo em relação à concentração inicial.

A bactéria isolada foi identificada como FMB08 e teve o melhor desempenho removendo mais de 50% dos BTEX em relação à concentração inicial com 36 horas de processo,

provavelmente essa bactéria seja do gênero *Pseudomonas*. Segundo os autores uma proteína da família das dioxigenases expressada por algumas bactérias quando em contato com compostos BTEX seria responsável pelo processo de biodegradação.

Devido à elevada toxicidade dos BTEX que representam um sério risco não só aos seres humanos, mas também ao meio ambiente, se faz necessário o estudo da sua degradação utilizando a via biológica por ser uma tecnologia mais eficiente quando comparado aos processos químicos e físicos empregados. As utilizações de micro-organismos nesses processos requerem ainda muita pesquisa para se desvendar os genes e mecanismos envolvidos. Vários fatores podem afetar a eficiência da atividade microbiana, tais como, pH, temperatura, nutrientes, toxicidade dos compostos, fonte de carbono e energia, inibição por metabólitos e substrato (VIEIRA, P. A et al, 2009). Estudos epidemiológicos comprovam que o benzeno é um poluidor muito perigoso devido a sua capacidade de causar leucemia e tumores múltiplos em muitos órgãos do corpo humano.

Os BTEX podem contaminar o solo, as águas subterrâneas e atmosfera através de derramamentos acidentais de petróleo e seus derivados (óleo diesel e gasolina), dos efluentes gerados nas indústrias petroquímicas e refinarias e das emissões veiculares. Por ser muito solúvel em água (MELLO, J. M. M et al, 2010; MEZZEO, D. E. C. et al, 2010; VIEIRA, P. A. et al, 2009).

Tabela 8 - Redução dos HPA na mistura água + 10% de B5 no efluente líquido (μg/L) com 15 dias de processo

| HPA (n° de anéis) | % de redução |
|---|---|
| **Naftaleno (2)** | 75 |
| **Acenaftileno (3)** | 63 |
| **Acenafteno (3)** | 65 |
| **Fluoreno (3)** | 63 |
| **Fenantreno (3)** | 61 |
| **Antraceno (3)** | 51 |
| **Fluoranteno (4)** | 21 |
| **Pireno (4)** | 30 |

Tabela 9 - Redução dos HPA na mistura água + 30% de B5 no efluente líquido (µg/L) com 15 dias de processo

| HPA(n° de anéis) | % de redução |
|---|---|
| **Naftaleno (2)** | 82 |
| **Acenaftileno (3)** | 51 |
| **Acenafteno (3)** | 93 |
| **Fluoreno (3)** | 88 |
| **Fenantreno (3)** | 58 |
| **Antraceno (3)** | <67 |
| **Fluoranteno (4)** | 64 |
| **Pireno (4)** | 61 |

Tabela 10 - Redução dos HPA na mistura água + 60% de B5 no efluente líquido (µg/L) com 15 dias de processo

| HPA (n° de anéis) | % de redução |
|---|---|
| **Naftaleno (2)** | < 60 |
| **Acenaftileno (3)** | <60 |
| **Acenafteno (3)** | <60 |
| **Fluoreno (3)** | <60 |
| **Fenantreno (3)** | <60 |
| **Antraceno (3)** | <60 |
| **Fluoranteno (4)** | <60 |
| **Pireno (4)** | <60 |

Tabela 11 - Redução do BTEX na mistura água + 10% de B5 no efluente líquido (µg/L) com 15 dias de processo

| BTEX | % de redução |
|---|---|
| **Benzeno** | 42 |
| **Tolueno** | 39 |
| **Etilbenzeno** | 86 |
| **m, p-Xilenos** | 80 |
| **o-Xileno** | 52 |

Tabela 12 - Redução do BTEX na mistura água + 30% de B5 no efluente líquido (µg/L) com 15 dias de processo

| BTEX | % de redução |
|---|---|
| **Benzeno** | 60 |
| **Tolueno** | 51 |
| **Etilbenzeno** | 46 |
| **m, p-Xilenos** | 39 |
| **o-Xileno** | 38 |

Tabela 13 - Redução do BTEX na mistura água + 60% de B5 no efluente líquido (µg/L) com 15 dias de processo

| BTEX | % de redução |
|---|---|
| **Benzeno** | 68 |
| **Tolueno** | 53 |
| **Etilbenzeno** | 43 |
| **m, p-Xilenos** | 26 |
| **o-Xileno** | 16 |

Os maiores percentuais de degradação do TPH foram de 65 e 41%, que correspondem às concentrações de 10 e 30%. Tabela 14. Os resultados obtidos neste trabalho de biodegradação de TPH foram satisfatórios quando comparados aos obtidos na literatura. Vieira, P. A et al, (2007), obtiveram uma redução de 90% de TPH com 49 dias de processo utilizando aeração intermitente e controle agitação. Vieira, P. A. et al, (2009) obtiveram uma redução 75,9% com 3 dias de processo, com o intervalo ótimo de aeração de 33 horas a 110 rpm.

Tabela 14 - Redução do TPH em todas as misturas de água + B5 no efluente líquido (µg/L) com 15 dias de processo

| TPH | % de redução |
|---|---|
| **Água + 10% de B5** | 65 |
| **Água + 30% de B5** | 41 |
| **Água + 60% de B5** | 23 |
| **Água + 80% de B5** | 37 |

# CAPÍTULO 6
# CONCLUSÕES

- A água do mar mostrou-se corrosiva para aço carbono AISI 1020, em todas as vazões estudadas com 15 dias de processo. As variações das vazões não afetaram a aderência dos micro-organismos.

- O combustível B3 promoveu diminuição às taxas de corrosão com o aumento da concentração do biocombustível. Nos experimentos com B5 verificou-se que a adição de 5% de biodiesel no diesel contribuiu positivamente para a diminuição das taxas de corrosão. As taxas de corrosão em todas as concentrações de B5 estudadas foram abaixo de 0,21mm/ano.

- Os principais produtos de corrosão identificados por difração de Raios-X foram as várias formas de FeOOH (Akaganeíta, Goethita e Lepidocrocita), todas as formas de $Fe_xS_y$ (Mackinwita, Jarosita, Pirotita e Greigita) e Magnetita nos experimentos conduzidos com B3.

- Sistemas constituídos por B5 em meio aquoso promoveram a formação de produtos de corrosão e biofilmes na superfície do aço carbono AISI 1020. A diminuição na concentração do elemento ferro (Fe) em todos os sistemas estudados evidenciou a dissolução do ferro e deterioração do aço carbono.

- Os hidrocarbonetos alifáticos do óleo diesel constituintes do B3 foram biodegradados em meio aquoso conduzidos em sistemas dinâmicos.

- A remoção dos HPAs do B5 por micro-organismos planctônicos e sésseis foi em torno de 50%.

- A biodegradação dos BTEX foi acima de 40% para as concentrações estudadas com B5.

- Os micro-organismos presentes em sistema tipo *Looping* foram capazes de promover a remoção significativa de TPH do B5.

# CAPÍTULO 7
# SUGESTÕES

- Avaliar o processo de biocorrosão e biodegradação nos combustíveis isoladamente;
- Estudar o processo de corrosão localizada através da técnica de contagem de pite e microscopia de forca atômica;
- Avaliar a cinética de biofilme através de ensaios eletroquímicos;
- Monitorar a biodegradação do biodiesel presente na mistura;
- Avaliar o processo de biocorrosão em sistemas contendo biodiesel proveniente de diferentes matérias-primas.

# CAPÍTULO 8

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBROZIM, A. R. P; KURI, S. E; MONTEIRO, M. R. Corrosão metálica associada ao uso de combustíveis minerais e biocombustíveis. Química Nova, vol. 32, n° 7, 1910-1916. 2009.

AMBROZIM, A. R. P; NAKAMURA, J; MONTEIRO, M. R; SANTOS, A. O; KURI, S. E. Corrosão galvânica e por frestas de componentes veiculares ocasionadas por misturas de biodiesel de dendê com diesel mineral. In: 33ª Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia. CD-ROM, maio de 2010.

BEECH, I. B. and SUNNER, J. Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals. Current Opinion in Biotechnology, Volume 15, Issue 3: 181-186.2004.

BEECH, I. B. Corrosion of technical materials in the presence of biofilms - current understanding and state-of-the art methods of study. International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 53, Issue 3: 177-183. 2004.

BEECH, I. B; GAYLARDE, C. C. Recents advances in the study of biocorrosion - an overview. Revista de Microbiologia, 30: 177-190. 1999.

BEYEANL, H. and LEWANDOWSKI, Z. Combined effect of substrate concentration and flow velocity on effective diffusivity. Wat. Res. 34 (2): 528-538.2000.

BRAUN, S. A poluição gerada por máquinas de combustão interna movida a diesel -A questão dos particulados. Estratégias atuais para a redução e controle das emissões e tendências futuras. Química Nova. Volume 27, n 3.472-482.2003.

BÜCKER, F; SANTESTEVAN, N. A; ROESCH, L. F; JACQUES, R. J. S; PERALBA, M. C. R; CAMARGO, F. A. O; BENTO, F. M. Impact of biodiesel on biodeterioration of stored Brazilian diesel oil. International Biodeterioration & Biodegradation. 65: 172-178. 2011.

CARVALHO, L. S; NEVES, S. B; ANA, J. S; MATOS, F. P; LOPEZ, R. V; MASCARENHAS, K. C; TEIXEIRA, W. Uma avaliação da corrosão em tubulações de aço inox e aço carbono por gases de queima utilizados na exploração do petróleo. In: 3° Congresso de Petróleo e Gás, Salvador, CD-ROM, outubro. 2005.

CETIN, D. and AKSU, M. L. Corrosion behavior of low-alloy steel in the presence of *Desulfoxomaculam* sp. Corrosion Science.51 (8): 1584-1588.2009.

Confederação Nacional da Indústria - CNI. Matriz Energética: cenários, oportunidades e desafios. Brasília: CNI. 82p. 2007.

CYPLIK, P; SCHMIDT, M; SZULC, A; MARECIK, R; LISIECKI, P; HEIPIEPER, H. J; OWSIANIAK, M; VAINSHTEIN, M; CHRZANOWSKI, L. Relative quantitative PCR to assess bacterial community dynamics during biodegratation of diesel and biodiesel fuels under various aeration conditions. Bioresource Technology. 102: 4347-4352. 2011.

CRAVO, W. B. JR. De FRANÇA, F. P. Effect of chromium concentration in metal alloys biofilm formation in a dynamic system. Corrosion Reviews. Vol. 22. No. 4. 2004.

DEL ARCO, J. P. & FRANÇA, F. P. Biodegradation of crude oil in sandy sediment. Biodeterioration & Biodegradation. 44: 87-92. 1999.

De FRANÇA, F. P. e CRAVO, W. B. JR. Variation in sessile microflora as function of flow velocity on coupons exposed to seawater. World Journal of Microbiology & Biotechnology 16: 811-814. 2000.

De FRANÇA, F. P; DIAS, D. S. B; MELO, I. R; LUTTERBACH, M. T. S. Effect of introduction of CO2 on the formation of biofilms/biocorrosion on AISI - 1018 carbon steel surfaces exposed in a dynamic system. In: Corrosion 2009 Conference & Expo, 2009, Atlanta. Corrosion 2009 Conference Papers on CD-ROM. USA: Government Work Published by NACE, 2009. v. 09386. p. 1-8. 2009.

De FRANÇA, F. P, FERREIRA, C. A. and LUTTERBACH, M. T. S. Effect of different salinities of dynamic water system on bioflim formation. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology 25: 45-48. 2000.

DEMELLO, J. A; CARMICHAEL, C. A; PEACOCK, E. E; NELSON, R. K; AREY, J. S; REDDY, C. M. Biodegration and environmental behavior of biodiesel mixtures in the sea: An initial study. Marine Pollution Bulletin, 54: 894-904. 2007.

DUAN, J; WU, S; ZHANG, X; HUANG, G; DU, M; HOU, B. Corrosion of carbon steel influenced by anaerobic biofilm in natural seawater. Eletrochimica Acta, 54: 22-28. 2008.

ENCINAR, J. M; GONZÁLEZ, J. J. R. and TEJEDOR, A. Biodiesel fuels from vegetable oils: Transesterification of *Cynara cardunculus* L. oils with ethanol. Energy & Fuels, 16: 443-450. 2002.

FAZAL, M. A; HASEEB, A. S. M. A; MASJUKI, H. H. Comparative corrosive characteristics of petroleum diesel and palm biodiesel for automotive materials. Fuel Processing Technology.91: 1308-1315. 2010.

FAZAL, M. A; HASEEB, A. S. M. A; MASJUKI, H. H. Effect of temperature on the corrosion behavior of mild steel upon exposure to palm biodiesel. Energy.36: 3328-3334. 2011.

FERREIRA, S. L; SANTOS, M. e SOUZA, G. R. Análise por cromatografia gasosa de BTEX nas emissões de motor de combustão interna alimentado com diesel e mistura diesel/biodiesel (B10). Química Nova. Vol. 31. N 3.539-545.2008.

FERRARI, R. A; OLIVEIRA, V. S; SCABIO, A. Biodiesel de Soja - Taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. Química Nova, Vol. 28, no. 1, 19-23. 2005.

GAYLARDE, C. C; BENTO, F. M; KELLEY, J. Microbial contamination of stored hydrocarbon fuels and its control. Revista de Microbiologia, 30: 01-10. 1999.

GENTIL, V. Corrosão. Livros técnicos e científicos, 6º edição, Rio de Janeiro. 2011.

GHIGO, J. M. Are these biofilms specific physiological pathways beyond a reasonable doubt. Res. Microbiol., jan - fev., 154, 1:1-8. 2003.

GONÇALVES, N. J. Potencialidade do tratamento por choque com biocidas na remoção e/ou formação de biofilmes. Tese de Mestrado. UFRJ/EQ, Rio de Janeiro. 2002.

HEITZ; A; KAGI, R. I. and ALEXANDER, R. Polysulfide sulfur in pipewall biofilms: It`s role in the formation of swampy odour in distribution systems. Water Science and Technology, vol.41, 4-5: 271-278. . 2000.

HILL, J; NELSON, E; TILMAN. D; POLASKY, S. and TIFFANY, D. Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels. Proceedings of the National Academy of Science 103, 11206-11210.2006.

HIBIYA, K; NAGAI, J; TSUNEDA, S; HIRATA, A. Simple prediction of oxygen penetration depth in biofilms for wastewater treatment. Biochemical Engineering Journal. 19: 61-68.2004.

KNOTHE, G; GERPEN, J. V; KRAHL, J; RAMOS, L. P. Manual de biodiesel. editora Edgard Bluncher, 1° reimpressão 2008, São Paulo, 2006.

JEFFREY, R. and MELCHERS, R. E. Bacteriological influence in the development of iron sulphide species in marine immersion environments.Corrosion Science. 45:693-714.

LAPINSKIENE, A; MARTINKUS, P; REBZDAITE, V. Eco-toxicological studies of diesel and biodiesel fuels in aerated soil. Environmental Pollution, 142:432-437.2006.

LECHEVALLIER, W. M; BABCOCK, M.T AND LEE, G.R. Examination and characterization of distribution system biofilm. Applied and Environmental Microbiology, Dezembro: 2714 -2724. 1987.

LITTLE, B. J; LEE, J. S; RAY, R. I. The influence of marine biofilms on corrosion: A concise review. Electrochimica Acta 54: 2-7. 2008.

LIU, Y. J; CHEN, Y. P; JIN, P. K; WANG, X. C. Bacterial communities in a crude oil gathering and transferring system (China). Anaerobe, 1-5. 2009.

LOPES, F. A; OLIVEIRA, R and MELO, L. F. The influence of nickel on the adhesesion ability of Desulfovibrio desulfuricans. Coll. Surf. Bioint, 46: 127-133.2005.

MACHADO, J. P. S. E; SILVA, C. C; GOMES, R. V; MARTINS, S. C. S; MELO, V. M. M. Avaliação da corrosão microbiológica no aço inoxidável AISI 444 por microrganismos presentes em amostras de petróleo. Revista Matéria, Vol. 10, n.2, PP.258-264. 2005.

MARCHAL, R; CHAUSSEPIED, B. and WARZYWODA, M. Effect of ferrous ion availability on growth of a corroding sulfate-reducing bacterium. International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 47, Issue 3: 125-131. 2001.

MARCUS, P. and OUDAR. J. Electrochemical basis of corrosion: corrosion mechanisms of corrosion in theory and practice. Marcel Dekk, Inc. New York. 1-18p. 1995.

MAZZEO, D. E. C; LEVY, C. E; ANGELIS, D. F; MARIN-MORALES, M. A. BTEX biodegradation by bactéria from effluents of petroleum refinery. Science of the Total Environment 408: 4334-4340. 2010.

MENG, X; YANG, J; XU, X; ZANG, L; NIE, M. X. Biodiesel production from oleaginous microorganisms. Renewable Energy, 34: 1-5. 2009.

MESSANO, L. V. R. Biocorrosão marinha: a comunidade macroinscrutante e seu efeito na corrosão de aços inoxidáveis especiais de alta liga (AISI 316; AISI 904L e Zeron 100). Tese de doutorado. UFRJ/Departamento de Metalurgia e de Materiais. Rio de Janeiro. 2007.

MELLO, J. M. M; BRANDÃO, H. L; SOUZA, A. A. U; SILVA, A; SOUZA, S. M. A. G. U. Biodegradation of BTEX compounds in a biofilm reactor- Modeling and simulation. Journal of Petroleum Science and Engineering. 70: 131-139. 2010.

MIRANDA, R. C; SOUZA, C. S; GOMES, E. B; LOVAGLIO, R. B; LOPES, C. E; SOUSA, M. F. V. Q. Biodegradation of diesel oil by yeasts isolated from the vicinity of Suape Port in the state of Pernambuco - Brazil. Brazilian Archives of Biology and Technology. Vol. 50. pp.147-152. January. 2007.

Ministério de Minas e Energia. Secretaria de Petróleo, Gás natural e Combustíveis Renováveis. Boletim mensal dos combustíveis renováveis. Edição 51. Abril de 2012. Publicado em 30/04/2012. Disponível em: www.mme.gov.br/spg/menu/publicações.html. Acessado em 02/05/2012.

MORLETT-CHÁVEZ, J. A; ASCACIO-MARTÍNEZ, J. A; RIVAS-ESTILLA, A. M; VELÁZQUEZ-VADILLO, J. F; HASKINS, W. E; BARRERA-SALDÑA, H. A; ACUNÃ-ASKAR, K. Kinetics of BTEX biodegradation by a microbial consortium acclimatized to unleaded gasoline and bacterial strains isolated from it. International Biodeterioration & Biodegradation. 64: 581-587. 2010.

NACE Standard RP0775. Item nº 21017. Preparation, installation, analysis and interpretation of corrosion coupons in oilfild operations. Houston. NACE International. 2005.

NASCIMENTO, A. R; ZIOLLI, R. L, Jr, ARARUN. J.T, PIRES, C. S. e SILVA, T. B. Avaliação do desempenho analítico do método de determinação de TPH (total Petroleum Hydrocarbon) por detecção no infravermelho. Eclética Química. São Paulo, 33 (1): 35-42. 2008.

NUNES, L. P. Fundamentos de resistência à corrosão. Editora Interciência, 1º Edição, São Paulo, 2007. 330 págs.

OLIVEIRA, F. J. S. and De FRANÇA, F. P. Increase in removal of polycyclic aromatic hydrocarbons during bioremediation of crude oil-contaminated Sandy soil. Applied Biochemistry and Biotechnology. 122 (1-3): 593-603. 2005.

OLIVEIRA, S. H; SANTOS, L. A; LIMA, E. S; LIMA, D. R; GONZALEZ, C. H; VINHAS, G. M; De FRANÇA, F. P; LIMA, M. A. G. A; URTIGA, S. L. F. Influência da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* na taxa de corrosão do aço carbono SAE 1010. In: 18° Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência de Materiais, Porto de Galinhas, CBCiMat 2008, CD-ROM, novembro. 2008.

OWSIANIAK, M; CHRZANOWSKI, L; SZULC, A; STANIEWSKI, J; OLSZANOWSKI, A; OLEJNIK-SCHMIDT, A. K.; HEIPIEPER, H. J. Biodegradation of diesel/biodiesel blends by a consortium of hydrocarbon degraders: effect of the type of blend and the addition of biosurfactants. Bioresource Technology, 100:1497-1500.2009.

PASQUALINO, J. C; MONTANÉ, D; SALVADÓ, J. Synergic effects of biodiesel in the biodegradability of fossil-derived fuels. Biomass and Bioenergy 30: 874-879.2006.

PEDRO, M. M. Sulphate respiration from hydrogen in *Desulfovibrio* bacteria: a structural biology overview. Progress in Biophysics and Molecular Biology, Volume 89, Issue 3: 292-329. 2005.

PERRY, T. D; DUCKWORTH, O.W; MCNAMARA, C. J; MARTIN, S. T; MITCHELL, R. Effects of the biologically produced polymer alginic acid on macroscopic and microscopic calcite dissolution rates. Environ.Sci.Technol. 38: 3040-3046.2004.

PENNA, M.O; BAPTISTA, W; BRITO R. F; NASCIMENTO, J. R; COUTINHO, C. M. L. Sistema dinâmico para avaliação de técnicas de monitoração e controle da CIM. Bol. Téc. PETROBRAS, Rio de Janeiro, 45 (1): 26-33, jan -mar.2002.

PINEAU, S; SABOT, R; QUILLET, L; JEANNIN, M; CAPLAT, CH; MORRAL, I. D; REFAIT, PH. Formation of the Fe (II-III) hydroxysulphate green rust during marine corrosion of steel associated to molecular detection of dissimilatory sulphite-reductase. Corrosion Science, 50: 10999-1111.2008.

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

POTEKHINA, J. S; SHERISHEVA, N. G; POVETKINA, L. P; POSPELOV, A. P; RAKITINA, T. A; WARNECKE, F. Role of microorganisms in corrosion inhibition of metals in aquatic habitats. Appl. Microbiol. Biotechnol. 52: 639-646. 1999.

PRINCE, R. C; HAITMANEK, C; LEE, C. C. The primary aerobic biodegradation of biodiesel B20. Chemosphere 71: 1446-1451. 2008.

RAUCH, M. E; GRAEF, H. W; ROZENZHAK, S. M; SHARON E. JONES; BLECKMANN, C. E; KRUGER, R. L; NAIK, R. R;STONE, M. O. Characterization of microbial contamination in United States Air Force aviation fuel tanks. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 33: 29-36. 2006.

Resolução ANP nº 2 de 12 de janeiro de 2011, Disponível em: <http://www.anp.gov.br>. Acessado em 22 de fevereiro de 2011.

Resolução ANP nº 42 de 16 de dezembro de 2009, Disponível em: <http://www.anp.gov.br>. Acessado em 22 de janeiro de 2010.

Resolução ANP nº 62 de 01 de dezembro de 2011. Disponível em: <http://www.anp.gov.br>. Acessado em 30 de dezembro de 2011.

RÉMAZEILLES, C; NEFF, D; KERGOURLAY, F; FOY, E; CONFORTO, E; GUILMINOT, E; REGUER, S; REFAIT, P. H; DILLMANN, P. H. Corrosion Science 51:2932-2941. 2009.

RUBIO, C; OTT, C; AMIEL, C; MORAL, D. I; TRAVERT, J; MARIEY, L. Sulfato/thiosulfato reducing bacteria characterization by FT-IR spectroscopy: A new approach to biocorrosion control. Journal of Microbiological Methods, Volume 64, Issue 3: 287-296. 2006.

SANTOS, L. A; OLIVEIRA, S. H; NAKAZAWA, M. M; BEZERRA, C. V. R; LIMA, E. S; VINHAS, G. M; ALMEIDA, Y. M. B; URTIGA, S. L. F; De FRANÇA, F. P; LIMA, M. A. G. A. A influência do biofilme formado em cupons metálicos AISI 1005. In: 18° Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência de Materiais, Porto de Galinhas, CBCiMat 2008, CD-ROM, novembro. 2008.

SHARMA, Y. C; SINGH, B; UPADHYAY, S. N. Advancements in development and characterization of biodiesel : A review. Fuel, 87: 2355-2373. 2009.

SHENG, X; TING, Y. P; PEHKONEN, S.O. The influence of ionic strength, nutrients and pH on bacterial adhesion to metals. Journal of Colloid and Interface Science, 321: 256 - 264. 2008.

SUTHERLAND, I. W. The biofilm matrix - an immobilized but dynamic microbial environment. TRENDS in Microbiology. Vol. 9, No. 5, May. 2001.

STAAL, M; PREST, E. I; VROUWENVELDER, J. S; RICKEL, L. F; KÜHL, M. A simple optode based method for imaging $O_2$ distribution and dynamics in tap water biofilms. Water Research. 45: 5027-5037. 2011.

STADLER, R; FUERBETH, W; HARNEIT, K; GROOTERS, M; WOELL-BRINK, M; SAND, W. First evaluation of the applicability of microbial extracellular polymeric substances for corrosion protection of metal substrates. Electrochimica Acta. 54 (1):91-99. 2008.

SUAREZ, P. A. Z; MENEGHETTI, S. M. P; MENEGHETTI, M. R; WOLF, C. R. Transformação de triglicerídeos em combustíveis, materiais poliméricos e insumos químicos: algumas aplicações da catálise na oleoquímica. Química Nova. V. 30: 667-676. 2007.

TANG, K; BASKARAM, V; NEMATI, M. Bacteria of the sulphur cycle: An overviem of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries. Biochemical engineering Journal, 44:73-94.2009.

TANJI, Y; SAKAI, R; MIYANAGA, K; UNNO, H. Estimation of the Self-purification capacity of biofilm formed in domestic sewer pipes. Biochemical Engineering Journal 31: 96-101. 2006.

TORRES, E. S. and De FRANÇA, F. P. Kinetics of biofilm formation as a function of dissolved oxygen concentration on AISI - 1020 carbon steel coupons. Corrosion Reviews. 20. N$^{os}$. 1-2. 2002.

TORRES, E. S. and De FRANÇA, F. P. Performance of foamy on the removal of biofilms from AISI 1020 carbon steel pipelines. Corrosion Reviews. Vol. 22. N$^{o}$. 3. 2004.

VARGAS, L. T; ALSINA, M. A; PASTEN, P. A; PIZARRO, G. E. Influence of solid corrosion by-products on the consumption of dissolved oxygen in copper pipes. Corrosion Science. 51:1030-1037.2009.

VASCONCELOS. U; OLIVEIRA, F. J. S; De FRANÇA, F. P. Removal of high-molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons. Química Nova. 34(2): 218-221.

VIDELA, H. A. Biocorrosão, biofouling e biodeterioração de materiais. Editora Edgard Blucher Ltda, 1º edição. São Paulo. 2003. 148 págs.

VIDELA, H. A. Prevention and control of biocorrosion. International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 49, Issue 4: 259-270. 2002.

VIDELA, H. A. and HERRERA, L. K. Understanding microbial inhibition of corrosion. A comprehensive overview. International Biodeterioration & Biodegradation. 63 (7):896 -900. 2009.

VIERA, M. R; GUIAMET, P. S; MELE, M. F. L. and VIDELA, H. A. Use of dissolved ozone for controlling planktonic and sessile bactéria in industrial cooling systems. International Biodeterioration e Biodegradation 44: 201-207. 1999.

VIVEROS, A. P; OCHOA, E. G; ALAZARD, D. Comparative electrochemical noise study of the corrosion process of carbon steel by the sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio alaskensis* under nutritionally rich and oligotrophic culture conditions. Electrochimica Acta, Volume 51, Issue 18: 3841-3847. 2006.

VIEIRA, D. M; COSTA, A. C. A; CARDOSO, V. L; De FRANÇA, F. P. Biosorption of lead by biofilm-forming srb from AISI 1020 steel carbon in a dynamic system. In: 16th INTERNATIONAL Corrosion Congress: Chinese Society for Corrosion and protection, Beijin, China. P.1- 4. 2005.

VIEIRA, P. A; VIEIRA, R. B; FARIA, S; RIBEIRO, E. J; CARDOSO, V. L. Biodegradation of diesel oil and gasoline contaminated effluent employing intermittent aeration. Journal of Hazardous Materials. 168:1366-1372. 2009.

VIEIRA, P. A; VIEIRA, R. B; FRANÇA, F. P; CARDOSO, V. L. Biodegradation of effluent contaminated with diesel fuel and gasoline. Journal of Hazardous Materials. 140:52-59. 2007.

WANG, W; JENKINS, P. E; REN, Z. Electrochemical corrosion of carbon steel exposed to biodiesel/simulated seawater mixture. Corrosion Science. 57: 215-219. 2012.

WASSERBAUER, R. Biocorrosion in transformer oils. Tribology International, Vol.22, Issue 1, February, 39 - 42. 1989.

WOLFGANG, S. AND TILMAN, G. Extracellular polymeric substances mediate bioleaching/biocorrosion via interfacial processes involving iron (III) ions and acidophilic bacteria. Research in Microbiology, Volume 157, Issue 1: 49-56. 2006.

XAVIER, J. B; C. PICIORIANU; J. S. ALMEIDA; M.C.M. LOOSDRECHT. Monitoração e modelação da estrutura de biofilmes. Boletim da Sociedade Portuguesa de Biotecnologia. Dezembro. 2003.

XU, C; ZHANG, Y; CHENG, G; ZHU,W. Localized corrosion behavior of 316 L stainless steel in the presence of sulfate-reducing and iron-oxidizing bacteria. Materials Science and Engineering A 443: 235-241. 2007.

ZUO, R. Biofilms: strategies for metal corrosion inhibition employing microorganisms. Appl. Microbial Biotechnol. 76: 1245-1253. 2007.

# CAPÍTULO 9
# ANEXO
## Produção Bibliográfica

### Trabalho publicado

MELO, I. R; URTIGA, S. L. F; OLIVEIRA, F. J. S; FRANÇA, F. P. Formation of biofilms and Biocorrossion on AISI-1020 carbon steel exposed to aqueous sistems containing different concentrations of a diesel/biodiesel mixture. International Journal of Corrosion, v. 2011, p. 1-6, 2011.

### Trabalhos completos publicados em eventos nacionais

MELO, I. R; FRANÇA, F. P; URTIGA, S. L. F; OLIVEIRA, F. J. S. Formação de biofilmes e consequências sobre o aço carbono AISI-1020 exposto em sistema dinâmico contendo como fluido água + 10% da mistura petrodiesel/biodiesel (B3) comercial. In: Intercorr 2010, Fortaleza. Intercorr 2010. Rio de Janeiro: Abraco, 2010.

MELO, I. R; Lima, D. R; Urtiga, S. L. F; Oliveira, F. J. S; França, F. P. Avaliação de diferentes vazões, em sistema dinâmico, na aderência de microrganismos em superfície metálica - Aço carbono AISI 1020. 2008 (CBCiMat 2008).

### Trabalho completo em evento internacional

FRANÇA, F. P. ou De FRANÇA, F. P; DIAS, D. S. B; MELO, I. R; LUTTERBACH, M. T. S. Effect of Introduction of CO2 on the Formation of Biofilms/Biocorrosion AISI1018 Carbon Steel Surfaces Exposed in A Dynamic System. In: Corrosion 2009 Conference & Expo, 2009, Atlanta. Corrosion 2009 Conference Papers on CD-ROM. USA: Government Work Published by NACE, 2009. v. 09386. p. 1-8.

**Resumo publicado em evento internacional**

MELO, I. R; URTIGA, S. L. F; OLIVEIRA, F. J. S; FRANÇA, F. P. Biocorrosion in pipeline during transport of diesel-biodiesel mixture (B5). In: 15th International Biodeterioration and Biodegradation Symposium, 2011. IBBS-15 Abstract BooK. Vienna: Katja Sterflinger & Guadalupe Piñar. v. 1. p. 1-277.