

MINISTÉRIO DE EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Escola de Engenharia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais
PPGEM

COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO FERRO ARMCO E DO AÇO SAE 4140
EM MEIOS CONTAMINADOS COM BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO

Eliena Jonko Birriel

Tese para obtenção do título de Doutor
em Engenharia

Porto Alegre

2003

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Escola de Engenharia

Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais

PPGEM

COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO FERRO ARMCO E DO AÇO SAE 4140
EM MEIOS CONTAMINADOS COM BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO

Eliena Jonko Birriel
Química

Trabalho realizado no Departamento de Metalurgia da Escola de Engenharia da UFRGS,
dentro do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de
Materiais - PPGEM, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em
Engenharia.

Área de Concentração: Ciência dos Materiais

Porto Alegre
2003

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do título de Doutor em Engenharia, área de concentração Ciência dos Materiais e aprovada em sua forma final, pelo Orientador e pela Comissão Examinadora.

Orientadora: Prof.^a Dra. IDUVIRGES LOURDES MULLER

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Luís Frederico Pinheiro Dick

Prof. Dr. Christine C. Gaylarde

Prof. Dr. Roberto Moreira Schroeder

Prof. Dr. Assis Vicente Benedeti

Prof. Dr. Carlos Arthur Ferreira
Coordenador do PPGEM

Dedico este trabalho
ao Paulinho, Nathália e Júlia.

AGRADECIMENTOS

A Prof^a. Dr^a Iduvirges Lourdes Muller orientadora, pela sua dedicação, apoio e incentivo durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Luís Frederico Pinheiro Dick, pelo apoio na realização dos ensaios.

Ao CNPq e a CAPES pelo suporte financeiro.

Ao Laboratório de Pesquisa em Corrosão (LAPEC) UFRGS e ao LAPEC-MIC onde foram realizados os ensaios eletroquímicos e microbiológicos deste trabalho, especialmente a Dr^a. Gelsa Edith Englert, pelo apoio e amizade.

Ao Prof. Telmo Roberto Strohaecker do Laboratório de Metalurgia Física – LAMEF-UFRGS e, especialmente, ao Eng. MSc Sandro Griza pela realização das análises de microscopia ótica e eletrônica de varredura.

À Universidade de Caxias do Sul, aos colegas do Departamento de Engenharia Química, Rejane Rech Mandelli, Lisete Cristine Scienza e Roberto Mandelli pelo incentivo e apoio durante a realização deste trabalho.

A Acadêmica de Eng. Química Flávia Riva, pela sua dedicação e auxílio na parte final da elaboração da tese.

Aos meus familiares e amigos que estiveram comigo em todos os momentos, obrigada pelo apoio.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	iv
AGRADECIMENTOS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xviii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	xix
RESUMO E PALAVRAS CHAVES.....	xxi
ABSTRACT.....	xxiii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1 Corrosão Induzida Microbiologicamente.....	2
2.1.1 Biofilme.....	3
2.1.2 Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS).....	5
2.1.3 Sulfeto de Hidrogênio.....	10
2.1.4 Sulfeto de Ferro.....	12
2.1.5 BRS e a Corrosão Tipo Pite.....	15
2.2 Materiais Utilizados em Meios com H ₂ S.....	16
2.3 Métodos de Proteção da Corrosão Induzida por Microrganismos.....	16
2.4 Efeitos do Hidrogênio em Materiais Metálicos.....	19
2.4.1 Adsorção e Absorção do Hidrogênio em Metais.....	20
2.4.2 Tipos de Fraturas Associadas com Hidrogênio.....	21

2.4.3 Condições em que o Hidrogênio Pode Causar Fragilização.....	23
2.4.4 Método de Permeação do Hidrogênio.....	29
2.4.5 O H ₂ S Gerado pelas BRS e a Taxa de Permeação de Hidrogênio em Metais.....	31
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
3.1 Identificação e Contagem do Consórcio Microbiano.....	33
3.1.1 Meios Bacteriológicos.....	33
3.1.2 Contagem das BRS Utilizando a Técnica do Número Mais Provável (NMP).....	33
3.1.3 Avaliação do Desenvolvimento do Inóculo em Função do pH.....	35
3.1.4 Preparação dos Meios Bacteriológicos Biologicamente Ativos.....	35
3.2 Materiais Metálicos Utilizados.....	36
3.3 Métodos.....	37
3.3.1 Curvas de Polarização Potenciostática.....	37
3.3.2 Ensaios de Permeação Eletroquímica.....	38
3.3.3 Acompanhamento da Corrente Desenvolvida nos Sistemas em Função de Potencial Catódico Aplicado.....	40
3.3.4 Análises de Microscopia Eletrônica de Varredura.....	41
3.3.5 Ensaios de Tração Baixa Taxa de Deformação (BTD).....	42
3.4 Equipamentos Utilizados.....	43
4 RESULTADOS.....	44
4.1 Inóculo Utilizado nos Ensaios.....	44
4.1.1 Microrganismos Identificados.....	44

4.1.2 Análise ao Microscópio.....	44
4.1.3 Meios Bacteriológicos Biologicamente Ativos.....	44
4.2 Ensaio para Contagem das BRS pelo Método do Número Mais Provável (NMP)	46
4.2.1 Resultados da Determinação do NMP.....	47
4.3 Avaliação do Desenvolvimento do Pré-Inóculo com Variação do pH.....	49
4.4 Análise da Concentração de SO_4^{2-} no Meio Bacteriológico PGC Estéril e Desenvolvimento do Inóculo.....	51
4.5 Ensaios para Avaliação da Aderência de Mcrorganismos sem Aplicação de Potencial Catódico – Avaliação por Microscopia Eletrônica de Varredura.....	52
4.6 Curvas de Polarização Potenciostática.....	56
4.7 Ensaios Cronoamperométricos.....	62
4.7.1 Ensaios com Aplicação do Potencial Catódico de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$ em Amostras de Ferro Armco.....	62
4.7.2 Ensaios com Aplicação de Potencial Catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	68
4.7.3 Ensaios Cronoamperométricos com Amostras de Aço SAE 4140.....	73
4.8 Ensaios de Permeação.....	76
4.8.1 Ensaios de Permeação em Meio Bacteriológico Postgate C com Bactérias Pré-Crescidas.....	76
4.8.2 Ensaios de Permeação Realizados com a Inoculação Diretamente na Célula de Permeação.....	84
4.9 Ensaios de Baixa Taxa de Deformação (BTD) em Amostras de Aço SAE 4140..	94
5 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	108
5.1 Ensaios Preliminares.....	108
5.2 Ensaios Eletroquímicos.....	113

5.3 Ensaio de Permeação.....	119
5.3.1 Ensaio de Permeação Inoculados Diretamente na Célula Eletroquímica....	128
5.4 Ensaio de Baixa Taxa de Deformação.....	130
6 CONCLUSÕES.....	137
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	139
ANEXOS.....	151

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Concentração de sulfeto devido ao crescimento de bactérias (Fonseca et al., 1994)	6
Figura 2.2 – Ilustração esquemática do efeito do hidrogênio na iniciação da fissura. (Coudreuse e Charles, 1987).....	29
Figura 3.1 – Desenho da célula de permeação eletroquímica (Della Mea, 1994)	38
Figura 3.2 – Corpo de prova utilizado em ensaio de tração baixa taxa de deformação.....	42
Figura 4.1 – Frasco A: meio Postgate C inoculado com 10 mL do pré-inóculo, após 10 dias de incubação em estufa a $\pm 28^{\circ}\text{C}$, mostrando a reação positiva do desenvolvimento do inóculo pelo escurecimento homogêneo do meio bacteriológico devido à formação de sulfeto de ferro. Frasco B: meio Postgate C estéril.....	45
Figura 4.2 – Fotografia do ensaio para determinação do NMP em meio bacteriológico Postgate B. Volume total dos frascos: 10 mL, temperatura de incubação de $\pm 28^{\circ}\text{C}$	47
Figura 4.3 – Curva de crescimento do inóculo contendo BRS. Volume de 300 mL do meio PGC mais 10 mL do pré-inóculo em PGB. Acompanhamento do crescimento durante 10 dias, observação diária.....	49
Figura 4.4 – Fotografia dos frascos para avaliação do desenvolvimento do inóculo em meio PGB, pH 9,0.....	49
Figura 4.5 – Fotografia dos frascos para avaliação do desenvolvimento do inóculo em meio PGB, pH 10,0.....	49
Figura 4.6 – Fotografia dos frascos para avaliação do desenvolvimento do inóculo em meio PGB, pH 11, 03.....	50
Figura 4.7 – Fotografia dos frascos para avaliação do inóculo em meio PGB, pH 12,40.....	50
Figura 4.8 – Fotografia dos frascos para avaliação do desenvolvimento do inóculo em meio PGB, pH 13,30.....	50

Figura 4.9 – Resultados da análise da concentração do SO_4^{2-} em função do tempo de incubação do inóculo utilizado neste estudo, análise realizada pelo método de turbidimetria.....	52
Figura 4.10 – Micrografia da superfície do ferro Armco após 30 min de exposição ao meio com bactérias.....	53
Figura 4.11 – Micrografia da superfície do ferro após 2 h de exposição ao meio bacteriológico com bactérias.	54
Figura 4.12 – Micrografia da superfície do ferro Armco após 4 h de exposição ao meio bacteriológico com bactérias.....	54
Figura 4.13 – Micrografia da superfície do ferro Armco após 6 h de exposição ao meio bacteriológico com bactérias.....	55
Figura 4.14 – Micrografia mostrando uma provável estrutura de sulfeto de ferro formado sobre a superfície do ferro Armco corroído, 4h de exposição ao meio bacteriológico.....	55
Figura 4.15 – Curva de polarização potenciostática para a platina em meio bacteriológico Postgate C estéril e arejado. PH 8; $E_{\text{corr}} = +451,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$; $E_{\text{inicial}} = -958,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$; $E_{\text{final}} = +1641,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	56
Figura 4.16 – Curva de Polarização potenciostática para o ferro Armco em meio bacteriológico Postgate C estéril e desarejado. pH 7; $E_{\text{corr}} = +84,5 \text{ mV}_{(\text{ECH})}$; $E_{\text{inicial}} = -758,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$; $E_{\text{final}} = +1241,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	57
Figura 4.17 – Curva de polarização potenciostática para o ferro Armco em meio Postgate C estéril. Redução do filme de óxido: $-758,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$ (30 minutos antes de iniciar o ensaio). Meio desarejado: 30 minutos antes de iniciar o ensaio. pH 7,3; $E_{\text{inicial}} = -758,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$; $E_{\text{final}} = +341,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	58
Figura 4.18 – Curva de polarização potenciostática para o ferro Armco em meio bacteriológico Postgate C estéril. Meio desarejado (30 minutos antes de iniciar o ensaio). pH 7,1; $E_{\text{inicial}} = -758,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$; $E_{\text{final}} = +361,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	59
Figura 4.19 – Curva de polarização potenciostática para o ferro Armco em meio bacteriológico Postgate C com bactérias pré crescidas por 10 dias. Meio desarejado (15 minutos antes de iniciar o ensaio). $E_{\text{corr}} = -488,5 \text{ mV}_{(\text{ECH})}$; $E_{\text{inicial}} = -958,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$; $E_{\text{final}} = +61,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	60

Figura 4.20 – Curva de polarização potencioestática para o ferro Armco anódica e catódica, a partir do potencial de corrosão em meio com bactérias pré-crescidas por 10 dias. $E_{corr} = -475,5 \text{ mV}_{(ENH)}$; $E_{inicial} = -1038,5 \text{ mV}_{(ENH)}$; $E_{final} = +241,5 \text{ mV}_{(ENH)}$	61
Figura 4.21 – Corrente obtida com aplicação do potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(ENH)}$. Eletrodo de ferro Armco em meio bacteriológico abiótico Postgate C.....	63
Figura 4.22 – Corrente obtida com aplicação de potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(ENH)}$. Eletrodo de ferro Armco em meio bacteriológico Postgate C com o inóculo de estudo (tempo de crescimento = 10 dias).....	63
Figura 4.23 – Corrente obtida com aplicação do potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(ENH)}$. Eletrodo de ferro Armco em meio com o inóculo de estudo (tempo de crescimento = 10 dias).....	64
Figura 4.24 – Micrografia da superfície do ferro Armco após realização do ensaio cronoamperométrico biótico com potencial aplicado de $-750 \text{ mV}_{(ENH)}$ (tempo de crescimento = 10 dias).....	64
Figura 4.25 – Micrografia da superfície do ferro Armco após ensaio cronoamperométrico biótico com potencial catódico aplicado de $-750 \text{ mV}_{(ENH)}$ (tempo de crescimento = 10 dias).....	65
Figura 4.26 – Micrografia da superfície do ferro Armco após realização do ensaio cronoamperométrico biótico com aplicação de potencial $-750 \text{ mV}_{(ENH)}$ (tempo de crescimento = 10 dias).....	65
Figura 4.27 – Corrente obtida com aplicação do potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(ENH)}$ com eletrodo de ferro. A inoculação foi realizada após 24 h após o início do ensaio (pré-inóculo de 5 dias).....	66
Figura 4.28 – Corrente obtida com aplicação de potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(ENH)}$ com eletrodo de ferro. Meio biótico (pré-inóculo de 7 dias).....	67
Figura 4.29 – Corrente obtida com aplicação de potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(ENH)}$ com eletrodo de ferro. Meio biótico (pré-inóculo de 14 dias).....	67
Figura 4.30 – Corrente obtida em ensaio potencioestático com aplicação de potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(ENH)}$. Eletrodo de ferro em meio PGC inoculado com bactérias no início do experimento.....	68

Figura 4.31 – Micrografia da superfície do ferro Armco realizada após o ensaio cronoamperométrico com aplicação de potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	69
Figura 4.32 – Micrografia do ferro Armco realizada após ensaio cronoamperométrico com aplicação do potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	69
Figura 4.33 – Micrografia do ferro Armco realizada após ensaio cronoamperométrico com aplicação do potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	70
Figura 4.34 – Micrografia realizada em amostra de ferro Armco após ensaio cronoamperométrico com aplicação do potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	70
Figura 4.35 – Micrografia realizada em amostra de ferro após ensaio cronoamperométrico com aplicação de potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	71
Figura 4.36 – Aparência ao microscópio eletrônico de varredura da amostra de ferro Armco após ensaio cronoamperométrico com aplicação do potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	71
Figura 4.37 – Superfície observada ao microscópio eletrônico de varredura em amostra de ferro Armco após ensaio cronoamperométrico com aplicação do potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	72
Figura 4.38 – Transiente de corrente obtida com aplicação do potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Eletrodo de aço SAE 4140 em meio bacteriológico Postgate C abiótico. $E_{\text{corr}} = -98,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	73
Figura 4.39 – Transiente de corrente obtida com aplicação do potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Eletrodo de aço SAE 4140 em meio bacteriológico Postgate C abiótico. $E_{\text{corr}} = -108 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	73
Figura 4.40 – Transiente de corrente obtida com aplicação do potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Eletrodo de aço SAE 4140 em meio bacteriológico Postgate C com bactérias pré crescidas por 10 dias. $E_{\text{corr}} = -568,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	74
Figura 4.41 – Transiente de corrente obtida com aplicação do potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Eletrodo de aço SAE 4140 em meio bacteriológico Postgate C com bactérias pré crescidas por 10 dias. $E_{\text{corr}} = -398,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	74
Figura 4.42 – Transiente de corrente obtida com aplicação do potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Eletrodo de aço SAE 4140 em meio bacteriológico Postgate C com bactérias pré crescidas por 10 dias. $E_{\text{corr}} = -98,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	75

Figura 4.43 – Transiente de corrente obtida com aplicação do potencial catódico de – 1000 mV _(ENH) . Eletrodo de aço SAE 4140 em meio bacteriológico Postgate C com bactérias pré crescidas por 10 dias. E _{corr} = – 638,5 mV _(ENH)	75
Figura 4.44 – Concentração de hidrogênio no potencial de corrosão (\cong –450 mV _(ENH)).....	76
Figura 4.45 – Concentração de hidrogênio com aplicação do potencial catódico de – 800 mV _(ENH)	77
Figura 4.46 – Concentração de hidrogênio com aplicação do potencial de – 900 mV _(ENH)	78
Figura 4.47 – Concentração de hidrogênio com aplicação do potencial de – 1000 mV _(ENH)	78
Figura 4.48 – Aparência ao microscópio eletrônico de varredura da superfície da amostra de ferro Armco após 8 dias em ensaio de permeação eletroquímica. Potencial catódico aplicado de –1000 mV _(ENH)	79
Figura 4.49 – Micrografia da superfície da membrana de ferro Armco (lado catódico) após 8 dias de ensaio na célula de permeação eletroquímica. Potencial catódico aplicado de –1000 mV _(ENH)	79
Figura 4.50 – Aparência da superfície da membrana de ferro Armco ao microscópio eletrônico de varredura após 8 dias de ensaio na célula de permeação eletroquímica. Potencial catódico aplicado de –1000 mV _(ENH)	80
Figura 4.51 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de – 1100 mV _(ENH)	80
Figura 4.52 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de – 1200 mV _(ENH)	81
Figura 4.53 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de – 1300 mV _(ENH)	82
Figura 4.54 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de – 1500 mV _(ENH)	83
Figura 4.55 – Medidas das concentrações de hidrogênio no meio estéril e imediatamente após a troca para o meio inoculado com BRS (tempo = 10 dias) com aplicação de diferentes potenciais catódicos.....	84

Figura 4.56 – Concentração de hidrogênio no potencial de corrosão. (E $\approx -450 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$).....	85
Figura 4.57 – Aparência da superfície da membrana de ferro Armco ao microscópio eletrônico de varredura após ensaio de permeação eletroquímica, no potencial de corrosão. (E $\approx -700 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$).....	85
Figura 4.58 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de $-700 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	86
Figura 4.59 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de $-800 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	87
Figura 4.60 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	87
Figura 4.61 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de $-1200 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	88
Figura 4.62 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de $-1400 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	89
Figura 4.63 – Micrografia da amostra de ferro Armco após ensaio paralelo de permeação, com aplicação de potencial catódico de $-1400 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	90
Figura 4.64 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de $-1500 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	90
Figura 4.65 – Micrografia da amostra de ferro Armco, retirada após ensaio de permeação eletroquímica, com aplicação de potencial catódico de $-1500 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	91
Figura 4.66 – Micografica da amostra de ferro Armco, retirada após ensaio de permeação eletroquímica, com aplicação de potencial catódico de $-1500 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	91
Figura 4.67 – Aparência ao microscópio eletrônico de varredura da amostra de ferro Armco, retirada após ensaio de permeação eletroquímica, com aplicação do potencial catódico de $-1500 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	92
Figura 4.68 – Medidas das concentrações de hidrogênio nas amostras de ferro Armco no meio bacteriológico PGC abiótico e imediatamente após a colocação do inóculo, em diferentes potenciais catódicos.....	93
Figura 4.69 – Curva tensão x deformação para corpo de prova tracionado ao ar.....	94

Figura 4.70 – Fotografia do corpo de prova após ensaio de tração ao ar.....	95
Figura 4.71 – Curva tensão x deformação para corpo de prova tracionado em óleo mineral.....	95
Figura 4.72 – Fotografia do corpo de prova de tração após ensaio de tração em óleo mineral.....	96
Figura 4.73 – Curva tensão x deformação para corpo de prova tracionado em meio bacteriológico Postgate C estéril.....	96
Figura 4.74 – Fotografia do corpo de prova após ensaio de tração (sem lixa) em meio PGC estéril.....	97
Figura 4.75 – Fotografia do corpo de prova de tração em meio Postgate C estéril (após lixa 1000).....	97
Figura 4.76 – Curva tensão x deformação para corpo de prova tracionado em meio bacteriológico com bactérias pré-crescidas por 10 dias.....	98
Figura 4.77 – Curva tensão x deformação para corpo de prova tracionado em meio bacteriológico com bactérias pré-crescidas por 10 dias, após imersão prévia por 60 horas.....	98
Figura 4.78 – Fotografia do corpo de prova de tração após ensaio em meio com bactérias pré-crescidas por 10 dias, após imersão prévia por 60 horas.....	99
Figura 4.79 – Curva tensão x deformação para corpo de prova tracionado em meio bacteriológico PGC + 10 mL de pré-inóculo.....	100
Figura 4.80– Curva tensão x deformação para corpo de prova tracionado em meio bacteriológico PGC + 10 mL de pré-inóculo e aplicação de potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	100
Figura 4.81 – Fotografia do corpo de prova após ensaio de tração, ao potencial de corrosão, em meio PGC com bactérias. Observa-se a superfície lateral do corpo de prova corroída. (Depois da lixa 1000).....	101
Figura 4.82 – Curva tensão x deformação para corpo de prova tracionado em meio bacteriológico PGC com bactérias pré-crescidas por 10 dias e aplicação de potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	102

Figura 4.83 – Curva tensão x deformação para corpo de prova tracionado em meio bacteriológico PGC com bactérias pré-crescidas por 10 dias e aplicação de potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	102
Figura 4.84 – Fotografia do corpo de prova após ensaio de tração BTd. Meio bacteriológico PGC com BRS pré-crescidas por 10 dias. O corpo de prova permaneceu em imersão por 24 h antes de iniciar o ensaio, potencial catódico aplicado de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	103
Figura 4.85 – Fotografia do corpo de prova após realização do ensaio de tração BTd, com tratamento de lixa 1000. Meio bacteriológico PGC com BRS pré-crescidas por 10 dias. O corpo de prova permaneceu em imersão por 24 h antes de iniciar o ensaio, aplicação de potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$	104
Figura 4.86 – Aparência da fratura do aço SAE 4140 após ensaio de tração BTd em óleo mineral neutro.....	105
Figura 4.87 – Aparência da fratura do aço SAE 4140 após ensaio de tração BTd em meio PGC estéril.....	105
Figura 4.88 – Microscopia eletrônica de varredura realizada na parte útil do corpo de prova, aço SAE 4140, após ensaio de tração BTd. Aplicação do potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Observa-se alguns pites sobre a superfície metálica e aderência de células bacterianas.....	106
Figura 4.89 – Microscopia eletrônica de varredura realizada na parte útil do corpo de prova, aço SAE 4140, após ensaio de tração BTd. Aplicação do potencial de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Observa-se a colonização de bactérias sobre a superfície metálica. Aumento de 2890 vezes.....	107
Figura 4.90 – Microscopia eletrônica de varredura realizada na parte útil do corpo de prova, aço SAE 4140, após ensaio de tração BTd. Aplicação do potencial de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Observa-se corrosão localizada e colonização de bactérias sobre a superfície metálica.....	107

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Composição química da amostra de aço.....	36
Tabela 3.2 – Caracterização do material através de ensaio de tração.....	36
Tabela 3.3 – Soluções utilizadas para a desidratação do biofilme formado sobre as amostras metálicas.....	40
Tabela 4.1 – Concentrações de alguns íons presentes nos meios Postgate B e C.....	45
Tabela 4.2 - Resultado do NMP do meio bacteriológico PGB após 3 e 10 dias da inoculação nas diluições de 10^{-1} a 10^{-9} com 3 repetições de 1; 0,1 e 0,01 mL.....	47
Tabela 4.3 – Resultado do desenvolvimento do inóculo com alteração do pH em função do tempo de incubação.....	50
Tabela 4.4 – Análise da concentração de SO_4^{2-} no meio bacteriológico PGC estéril e inoculado com o consórcio bacteriano (t= 24 dias).....	50
Tabela 4.5 – Concentração de hidrogênio medido no meio estéril e imediatamente após a colocação no meio inoculado com BRS (tempo = 10 dias) com aplicação de diferentes potenciais catódicos.....	83
Tabela 4.6 – Medidas das concentrações de hidrogênio imediatamente após a colocação do inóculo no meio estéril.....	92

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CIM:	Corrosão induzida por microrganismos
BRS:	Bactérias redutoras de sulfato
BTD:	Baixa taxa de deformação
ENH:	Eletrodo de Hidrogênio
TIH:	Trincas induzidas pelo Hidrogênio
HIC:	Hydrogen induced cracking
HISC:	Hydrogen induced stress cracking
HIFC:	Hydrogen induced fatigue cracking
CCC:	Cúbico de corpo centrado
CFC:	Cúbico de face centrada
σ_a :	Tensão aplicada
σ_R :	Tensão residual
σ_c :	Tensão coesiva
J:	Fluxo
L:	Espessura
D:	Coeficiente de difusão
F:	Constante de Faraday
n:	Número de elétrons

C:	Concentração
i:	Densidade de corrente
t:	Tempo
T:	Temperatura
Ep:	Potencial de pite
E _{corr} :	Potencial de corrosão
C.S.T:	corrosão sob tensão
V _(ENH) :	volts em relação ao eletrodo normal de hidrogênio
V _(ECS) :	Volts em relação ao eletrodo de calomelano saturado
V _(Ag/AgCl) :	Volts em relação ao eletrodo de cloreto de prata
V _(Cu/CuSO₄) :	Volts em relação ao eletrodo de sulfato de cobre
A:	Área
cp:	Corpo de prova
MEV:	microscopia eletrônica de varredura
NNP:	Número mais provável
EPS:	Extrapolissacarídeo
H _{ads} :	Hidrogênio adsorvido
PGC:	Postgate C
PGB:	Postgate B

RESUMO

Foi avaliada a influência de microrganismos na corrosão e na reação de absorção ou liberação de hidrogênio em amostras de ferro Armco e do aço SAE 4140. Utilizou-se um consórcio microbiano, no qual estava presente a bactéria redutora de sulfato (BRS) *Desulfovibrio desulfuricans* que, por meio de reações metabólicas, produz gás sulfídrico (H_2S), conhecido por catalisar a reação de hidrogênio.

Através de ensaios de permeação de hidrogênio em amostras de ferro Armco determinou-se a corrente de permeação e a concentração superficial de hidrogênio desenvolvida, utilizando-se uma célula de Devanathan-Stachurski. Primeiramente determinou-se a corrente em meio bacteriológico Postgate C abiótico, substituindo-o então pelo meio bacteriológico inoculado com o consórcio de microrganismos. Os conseqüentes transientes de corrente foram determinados em diferentes valores de potenciais catódicos, entre $-1500\text{ mV}_{(ENH)}$ e o potencial de corrosão do ferro. Observou-se um aumento na corrente de permeação após a colocação dos meios inoculados o que significa um maior fluxo de hidrogênio se difundindo através da amostra. Porém, após um determinado período de tempo (em torno de 30 horas) a corrente de permeação tende a se estabilizar em decorrência de alguns fatores como os depósitos biológicos formados na superfície metálica (biofilme), a formação de filmes de precipitação de sais em função da polarização catódica aplicada e também devido ao filme de sulfeto de ferro, dificultando desta forma a passagem do hidrogênio.

Ensaio de tração de baixa taxa de deformação (BTD) com corpos de prova de aço SAE 4140, foram utilizados nos mesmos meios citados, ao potencial de corrosão e com aplicação de potencial catódico de -750 e $-1000\text{ mV}_{(ENH)}$, para avaliar a morfologia da fratura. Em meios com H_2S produzido metabolicamente, observou-se fratura frágil, associada à fragilização pelo hidrogênio, ao contrário dos resultados obtidos em meios sem o H_2S , que promoveram fratura dúctil.

Ensaio potencioestáticos com as amostras de ferro Armco e o aço SAE 4140 foram realizados em condições semelhantes aos ensaios de permeação e de baixa taxa de deformação. Os corpos de prova foram analisados por microscopia eletrônica de varredura

para observar o biofilme, bem como a morfologia da corrosão. Nos ensaios de potencial a circuito aberto intensa colonização da superfície por bactérias foi observada após duas horas, porém com aplicação de potenciais catódicos ($-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$), observou-se um número menor de células bacterianas aderidas à superfície metálica.

Os produtos metabólicos, principalmente o H_2S , provenientes do metabolismo das bactérias redutoras de sulfato (BRS), aceleram o processo de corrosão, principalmente quando o meio em questão propicia zonas de anaerobiose como a formação de biofilme e a formação de sulfeto de ferro (FeS) sobre a superfície metálica.

Palavras chaves: Bactérias Redutoras de Sulfato, permeação eletroquímica, ferro Armco, aço SAE 4140, hidrogênio, polarização catódica.

ABSTRACT

The present investigation was undertaken to evaluate the influence of microorganisms on the corrosion and on the hydrogen absorption and evolution reaction of Armco iron and SAE 4140 steel samples. A mixed group of microbes was used, in which was present the Sulfate-Reducing Bacteria (SRB) *Desulfovibrio desulfuricans* that, through metabolic reactions, produces hydrogen sulfide gas (H_2S), recognized for catalyzing the hydrogen reaction.

The permeation current of hydrogen and its concentration on the surface were determined on Armco iron samples, using a Devanathan-Stachurski cell. The experiments were carried out in an abiotic Postgate C bacterial growth medium and after the current stabilization, which lasted 24 hours, this medium was replaced by an environment inoculated with microorganisms. The consequent current transients were determined for different cathodic potentials, from $-1500\text{ mV}_{(ENH)}$ to the iron corrosion potential. An increase in the permeation current was observed after the addition of the inoculated environment, which means a higher flux of hydrogen diffusing through the sample. However, after a certain period of time (around 30 hours), the permeation current tended to stabilize, due to the biologic deposits formed on the metallic surface and to the films precipitated due to the cathodic polarization, which reduce hydrogen ion migration.

Low-strain rate tests with SAE 4140 steel samples were used in the same environments, at the corrosion potential and with the application of cathodic potentials of -750 and $-1000\text{ mV}_{(ENH)}$ to evaluate the fracture morphology. In environments with metabolically produced H_2S , a fragile fracture was observed, associated with hydrogen embrittlement, while in H_2S -free environments a ductile fracture was produced.

Potentiostatic tests with Armco iron and SAE 4140 steel samples were performed in similar conditions to permeation and low-strain rate tests. The samples were analyzed by Scanning Electron Microscopy (SEM) in order to observe the biofilm, as well as the corrosion morphology. In the samples without applied potential, a heavy surface colonization by bacteria was observed after 2 hours, while in the samples under cathodic potential ($-1000\text{ mV}_{(ENH)}$) only few bacterial cells adhered to the metallic surface.

It was observed that Sulfate-Reducing Bacteria (SRB) accelerate the corrosion process, mainly when the environment is able to provide anaerobeose zones such as the biofilm and the iron sulfide (FeS) on the metallic surface.

Key-words: Sulfate-Reducing Bacteria, Electrochemical permeation, Armco iron, SAE 4140 steel, hydrogen, cathodic polarization.

1. INTRODUÇÃO

O termo corrosão influenciada por microrganismos (CIM) faz referência à participação dos microrganismos no processo corrosivo. Na literatura encontra-se estudos de CIM relacionada a diversos metais e ligas, destacando-se os que abordam a influência dos microrganismos na corrosão de aços-carbono e aços inoxidáveis em diferentes meios aquosos; água do mar, de rios, lodo, óleo combustível, em meios bacteriológicos ou com nutrientes específicos para o crescimento de determinados microrganismos.

A ação dos microrganismos pode acelerar o processo corrosivo, seja pela adesão das células bacterianas e consequente formação do biofilme, quanto pelos produtos decorrentes do metabolismo bacteriano que podem ser agressivos para o material metálico. A CIM pode ser avaliada através de diferentes técnicas eletroquímicas associadas às microbiológicas.

No caso das Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS), o H_2S , produto do metabolismo das bactérias é, por um lado, um agente corrosivo aos materiais metálicos, principalmente quando há formação do filme de sulfeto de ferro não protetor, e por outro lado pode impedir a reação de formação do hidrogênio molecular e com isto há uma maior disponibilidade de hidrogênio atômico. O hidrogênio na forma atômica pode ser absorvido pela estrutura metálica dos aços e com isto pode ocasionar a diminuição da resistência mecânica, como a perda da ductilidade e fragilização do material.

Vários parâmetros influenciam o desenvolvimento das BRS, entre eles a disponibilidade nutricional e a concentração do oxigênio, que pode impedir o desenvolvimento das bactérias.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a difusão de hidrogênio em amostras de ferro Armco utilizando-se a técnica de permeação eletroquímica, em meios bacteriológicos Postgate C com BRS, com aplicação de diferentes potenciais catódicos, bem como ensaios de tração de baixa taxa de deformação para avaliar a susceptibilidade à fragilização pelo hidrogênio do aço SAE 4140 com meios contaminados por estas bactérias. Foram realizados ensaios eletroquímicos para avaliar a influência dos meios biologicamente ativos sobre os materiais metálicos utilizados em comparação aos meios estéreis, e também análises de

superfície (microscopia eletrônica de varredura e ótica) para observação da formação do biofilme sobre as amostras metálicas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Corrosão Induzida Microbiologicamente

Os processos de deterioração de material metálico em que microrganismos têm participação direta ou indireta são denominados de corrosão microbiológica ou corrosão induzida microbiologicamente (CIM). De acordo com Videla (1981), os principais mecanismos em que os microrganismos podem interferir no processo corrosivo são:

- produção metabólica de substâncias corrosivas: ácidos orgânicos e inorgânicos, por exemplo, a produção de ácido sulfúrico pelas bactérias do gênero *Thiobacillus*;
- formação de pilhas de aeração diferencial: neste caso há normalmente uma associação de bactérias e/ou fungos de diferentes espécies. A deposição da biomassa sobre o substrato metálico pode provocar ataque localizado tipo pite ou corrosão por frestas, provocando limitação de acesso do oxigênio, similar ao que ocorre nos casos clássicos destes tipos de corrosão. Em certos casos, principalmente em ambientes naturais, observa-se a formação de complexas estruturas nestes filmes que formam tubérculos, na maioria das vezes, com diferentes microrganismos que desenvolvem um consórcio microbiano (Fonseca et al., 1996). O desenvolvimento destes consórcios pode criar condições de anaerobiose e facilitar o desenvolvimento de espécies anaeróbicas;
- participação direta dos microrganismos na reação que conduz ao processo de corrosão: com o exemplo cita-se o caso das Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS) que atuam despolarizando catodicamente a reação de corrosão, isto é, consumindo o hidrogênio devido a enzima hidrogenase que estes microrganismos possuem;
- interferência de microrganismos em películas protetoras: no caso do sulfeto de ferro formado sobre substratos metálicos ferrosos em meios com H_2S gerado por BRS, dependendo das condições físico-químicas do meio líquido, principalmente pH, o filme formado pode apresentar características passivas ou acelerar o processo corrosivo.

A interação entre os microrganismos e a superfície metálica juntamente com o processo corrosivo é bastante complexa e atualmente é utilizado o termo “meios biologicamente ativos” para designar não somente a presença de microrganismos ou de seus metabólitos como o sulfeto no meio do presente estudo, mas o efeito de todas as atividades do consórcio microbiano, como a interação com outros componentes do meio, degradação do “fouling” de microrganismos, produção de material extrapoliissacarídeo, adesão das bactérias à superfície metálica e interações eletroquímicas com a superfície (Edyvean, 1998).

Entretanto, mesmo com a intensa atividade de microrganismos que interferem em variados níveis nas reações anódicas e catódicas, a natureza eletroquímica do processo de corrosão não é alterada.

2.1.1 Biofilme

A adesão de microrganismos a superfícies metálicas, cerâmicas ou materiais poliméricos é a etapa mais importante para a formação do biofilme. Este filme apresenta uma estrutura complexa, e conceitua-se como uma matriz orgânica onde se encontram as células bacterianas, nutrientes, substâncias poliméricas extracelulares e água (Characklis, 1989).

A colonização da superfície metálica não é uniforme, porque as bactérias tendem a formar microcolônias. A formação do biofilme envolve, basicamente, três etapas: primeiramente, ocorre o transporte e absorção de moléculas orgânicas à superfície metálica. Quando o material metálico ou outro substrato encontra-se num meio líquido é recoberto por uma camada de moléculas orgânicas. Esta etapa é formada muito rapidamente e é chamada de “condicionamento da superfície”. Após, se dá o transporte e fixação das células no substrato; nesta etapa a mobilidade dos microrganismos tem um papel importante. O tempo para o desenvolvimento do biofilme, depende das características do meio, entre elas a temperatura, disponibilidade de nutrientes e dos microrganismos. Em condições de fluxo laminar o movimento browniano pode ser o mecanismo principal, e em condições de fluxo turbulento o movimento convectivo pode predominar. Subsequente a estas etapas, ocorre o

início da fixação de microrganismos ao substrato, através das moléculas orgânicas. Esta interação pode ser reversível ou irreversível.

A segunda etapa, de adesão das células à superfície metálica, se caracteriza por apresentar um conjunto de forças físicas como interações eletrostáticas, forças de van der Waals, interações entre dipolos, ligações químicas e interações hidrofóbicas entre as células bacterianas e a superfície (Stanley, 1983). Denominam-se bactérias sésseis as que se ligam à superfície metálica, ao contrário das bactérias plantônicas, que permanecem dispersas na fase aquosa. A partir desta etapa começa, então, a formação do biofilme, através da síntese de uma matriz orgânica que liga as células firmemente à superfície que é formada pelos biopolímeros (polímeros extracelulares ou exopolímeros) produzidos e secretados pelos microrganismos em soluções aquosas. Segundo Thies (1995), estes compostos são formados de polissacarídeos, glicolipídeos e glicoproteínas tendo pequenas seqüências de α -amino ácidos residuais que estão espaçados dentro de discretos esqueletos de cadeias de oligossacarídeos, associados ao processo de deterioração do metal. Este material polimérico produzido por certos microrganismos tem atividade tensoativa na superfície, semelhante à encontrada nos surfactantes, particularmente quando os organismos crescem em meios que contenham hidrocarbonetos como origem do carbono orgânico ou bicarbonato como fonte de carbono inorgânico. Estas substâncias, em alguns casos, apresentam um caracter ácido que é conferido pela grande quantidade de ácido urônico.

Após a fixação, e havendo nutrientes disponíveis, o biofilme se desenvolve e pode agregar outros microrganismos como algas e bactérias plantônicas. Estes microrganismos podem interagir intimamente e um consórcio microbiano pode se estabelecer. De acordo com Fonseca et al. (1996), o biofilme além de ligar as bactérias à superfície, tem outras funções, por exemplo, de proteção das células evitando a difusão do oxigênio e de biocidas, auxiliar na concentração de nutrientes e absorver moléculas orgânicas. A vida de um biofilme é cíclica, aumentando a sua massa por proliferação celular, produção de exopolímeros e aprisionamento de células no seu interior e a diminuição do biofilme se dá por morte celular, predação e deslocamento celular.

O desenvolvimento deste filme é similar na grande variedade de sistemas, e segundo Videla (1996) pode ocasionar diversos tipos de problemas em tubulações enterradas, tanques

de armazenamento, filtros, sistemas de água de refrigeração (Gaylarde, 1992), máquinas de usinagem que utilizam líquidos de corte, entre outros. A formação de biofilme pode alterar a superfície metálica em equipamentos industriais até mesmo antes do equipamento entrar em operação como no caso do teste hidrostático citado por Telles (1994), que ocorre caso a água do teste fique muito tempo retida dentro do equipamento, ou não seja completamente drenada.

O tipo e a intensidade da aderência de bactérias pode estar relacionada aos diferentes tipos de materiais metálicos que, pelo fato de apresentarem composição química variável, apresentam características diferentes quanto a susceptibilidade à corrosão. Também pode ocorrer a interferência de íons metálicos, resultantes do produto de corrosão, que por estarem muito próximos a superfície metálica podem fazer parte do biofilme.

De acordo com Feron (1995) os íons ferro, cromo, molibdênio, níquel, vanádio e cromo têm influência no desenvolvimento de *Desulfovibrio vulgaris* e também na aderência desta bactéria nos sete diferentes tipos de aço testado, do aço carbono até o aço inoxidável. Para analisar a influência dos íons no desenvolvimento das bactérias, primeiramente foram dissolvidos íons metálicos nos meios de cultura. Os resultados dos testes mostraram que o ferro tem um efeito benéfico no crescimento, enquanto que Mo, Cr, V e Cu limitam o crescimento desta bactéria quando alcançam valores de 0,1 mM. Quanto ao efeito da interferência dos íons na fixação da bactéria ao substrato metálico, os resultados mostraram que os elementos de liga podem influenciar a susceptibilidade a CIM. Os elementos de liga são adicionados aos metais e melhoram suas propriedades, principalmente quanto a resistência à corrosão, porém podem também se dissolver junto com o ferro no processo de corrosão. O aço de baixo carbono foi colonizado em 24 horas, os aços contendo Cr apresentaram um decréscimo da colonização superficial de 50%, e, aumentando a concentração de Cr, diminui a fixação das bactérias. Resultados semelhantes foram obtidos com Mo e V. Os resultados evidenciam o fato de que os elementos de liga podem apresentar um efeito tóxico à adesão de bactérias, e que neste estudo foi relacionado apenas a um gênero

de bactéria estudada; na presença de um consórcio microbiano poderia-se esperar resultados diferentes dos mencionados.

2.1.2 Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS)

As BRS foram descobertas por Beijerinck em 1895 (Postgate, 1981). São anaeróbios obrigatórios que usam o sulfato como acceptor final de elétrons reduzindo-o a sulfeto. Os gêneros melhor caracterizados são *Desulfovibrio* e *Desulfotomaculum*. O primeiro gênero é o mais conhecido por ser mais fácil de isolar e purificar; são mesofílicos e não tem esporos. A espécie mais estudada deste gênero é *Desulfovibrio desulfuricans*. O segundo gênero, *Desulfotomaculum*, pode ser mesofílico e termofílico e forma esporos. A espécie mais conhecida é o *Desulfotomaculum nigrificans*.

Algumas espécies são capazes de crescimento fermentativo sem sulfato, mas não podem crescer com o oxigênio como acceptor de elétrons, sendo que o oxigênio sempre inibe o seu crescimento. Estes gêneros de bactérias têm um crescimento relativamente baixo quando comparado a microrganismos comuns da água e do solo como as *Pseudomonas*, e podem, inclusive, estar na forma dormente, se tornando ativas quando as condições se tornam anaeróbias.

Fungos, leveduras e bactérias podem usar o sulfato como única fonte de enxofre biológico, para isto o enxofre deve ser reduzido. A redução do íon sulfato ocorre quando o átomo de enxofre passa do seu estado oxidado para o estado reduzido. Este processo é chamado de redução assimilatória do sulfato, porque o enxofre é incorporado nas moléculas biológicas, seja como proteínas, aminoácidos contendo enxofre ou dentro de co-fatores como a biotina e o ácido pantotênico.

As BRS, por outro lado, fazem a redução dissimilatória do enxofre. Neste processo, íons de sulfato atuam como um agente oxidante para a dissimilação de matéria orgânica, como faz o oxigênio na respiração convencional. Uma pequena quantidade de enxofre reduzido é assimilado pelo organismo, mas é liberado para o meio externo como H_2S . Este processo

é chamado de respiração de sulfato, analogamente a respiração de nitrato em bactérias denitrificantes e respiração de carbonatos em certas bactérias metanogênicas .

O aumento da concentração de sulfeto é devido ao crescimento da população bacteriana, como esperado, de acordo com o seguinte mecanismo:

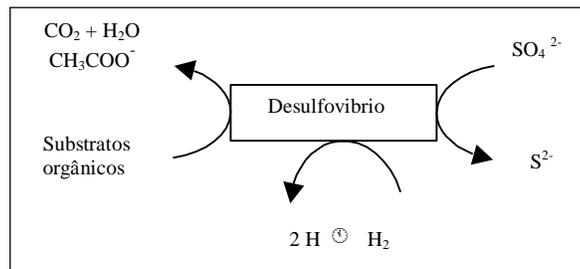


Figura 2.1 – Concentração de sulfeto devido ao crescimento de bactérias (Fonseca et al., 1994)

Estes microrganismos são conhecidos como os mais agressivos em biocorrosão anaeróbica de aços (Swords, 1998).

A corrosão anaeróbica do ferro em presença de BRS é objeto de estudo há várias décadas, e a primeira explicação científica sobre este fenômeno foi proposta em 1934 por von Wolzogen Kuhr e van der Vlugt, e foi baseada nos seguintes fatos:

- a corrosão anaeróbica em solos desarejados está associada à formação de sulfetos de ferro;
- as BRS produzem ácido sulfídrico;
- as BRS podem utilizar hidrogênio molecular na redução do sulfato.

Esta teoria foi chamada de teoria da despolarização catódica e está esquematizada nas reações abaixo, sendo que a etapa principal é a remoção do hidrogênio formado no cátodo pelo sistema da enzima hidrogenase que as BRS possuem:

Dissociação da água:	$8\text{H}_2\text{O} \rightarrow 8\text{H}^+ + 8\text{OH}^-$
Reação anódica:	$4\text{Fe} \rightarrow 4\text{Fe}^{2+} + 8\text{e}^-$
Reação catódica:	$8\text{H}^+ + 8\text{e}^- \rightarrow 8\text{H}$
Despolarização catódica:	$\text{SO}_4^{2-} + 8\text{H} \rightarrow \text{S}^{2-} + 4\text{H}_2\text{O}$
Formação de produtos de corrosão (I):	$\text{Fe}^{2+} + \text{S}^{2-} \rightarrow \text{FeS}$
Formação de produtos de corrosão (II):	$3\text{Fe}^{2+} + 6(\text{OH})^- \rightarrow 3\text{Fe}(\text{OH})_2$

Durante o processo de corrosão são formados complexos equilíbrios entre diferentes compostos de ferro, porém na presença de bactérias e principalmente durante o crescimento bacteriano, estes compostos são alterados. As BRS produzem diversas mudanças na interface metal/solução que podem influenciar o pH, o potencial redox, a concentração de ânions e cátions e a composição de camadas inorgânicas.

De acordo com Crolet et al. (1995), as BRS podem regular o pH do meio para valores de caráter ácido: este fato é importante tanto em relação aos aspectos eletroquímicos quanto aos microbiológicos. Também podem ocorrer alterações pelas reações secundárias envolvendo a presença de traços de oxigênio ou variando níveis de óxido de ferro. Esta acidificação local é característica da corrosão por pite. Crolet (1993) apresentou os seguintes valores em relação ao metabolismo de BRS, como exemplo, a redução de sulfato com a oxidação do lactato, que pode alcançar pH em torno de 6,7. Se traços de oxigênio oxidarem os sulfetos, o pH poderá diminuir para 6,2. No entanto, se o tiosulfato produzido for reciclado pela bactéria, o pH pode alcançar valores de 5,4. Simultaneamente, a reação catódica poderia decrescer a concentração de oxigênio e tiosulfato, levando o pH para valores os valores iniciais de 6,7. A consequência final poderia ser o desenvolvimento de uma célula galvânica com um ânodo ácido (pH 5,4) e um cátodo próximo de um valor neutro (pH 6,7). Este fator foi considerado também por outros autores como o principal do processo de corrosão envolvendo BRS.

Os valores do potencial redox interferem na intensidade da corrosão, e segundo Starkey (1945 apud Videla 1981) a seguinte escala pode ser aplicada para classificar (em termos da corrosão por BRS) os solos:

Valor do EH (mV)	Intensidade da corrosão
Menos de 100	Severa
100 – 200	moderada
200 – 400	ligeira
mais de 400	não há corrosão

O desenvolvimento de BRS em ausência de oxigênio acarreta uma queda no potencial redox.

As BRS são os principais microrganismos estudados em CIM e, assim como os microrganismos em geral, raramente ocorrem ou atuam sozinhas na natureza, e são encontradas em complexas associações com outros microrganismos, os quais têm um papel importante na criação das condições necessárias tanto físicas (zonas de anaerobiose) quanto nutricionais para o seu desenvolvimento. Por isto, também podem ser importantes em meios aeróbicos.

De acordo com Santegords et al. (1998), que realizaram experimentos combinando a aplicação de microssensores e técnicas baseadas nas análises do DNA e RNA bacteriano para investigar o desenvolvimento da redução de sulfato e o desenvolvimento da população de BRS em meios aeróbicos, as zonas anaeróbicas se desenvolveram num período de uma semana dentro do biofilme. A redução de sulfato foi detectada depois de seis semanas de crescimento, entretanto condições favoráveis de crescimento de BRS foram detectadas depois de uma semana. Os autores relatam que com uma semana o biofilme desenvolvido sobre uma amostra de plástico atingiu 400 μm de espessura. A espessura do biofilme continuou aumentando até a oitava semana e depois deste tempo permaneceu entre 1000 e 1200 μm .

Segundo Edyvean (1991), para garantir a atividade das BRS o biofilme necessita somente de 15 a 20 μm de espessura na superfície do metal, lembrando que devido às complexas interações que ocorrem no biofilme, as características próximas da superfície do metal são completamente diferentes das encontradas no seio da solução.

Devido à agressividade acentuada do meio quando BRS estão presentes, estas bactérias são freqüentemente associadas à corrosão do aço e ligas de ferro em condições anaeróbicas. Dos resultados de pesquisas em que as BRS influenciam a corrosão do aço-carbono em meio salino, Videla (2000) resumiu os seguintes tópicos:

- o efeito de íons sulfeto bióticos e abióticos na quebra de filmes passivos de aço-carbono é similar. A característica e intensidade do efeito destes sulfetos no comportamento da corrosão do aço estão relacionados a natureza do filme protetor anteriormente presente na superfície do metal;
- em valores de pH neutro ânions sulfeto levam a formação de um filme de mackinawita;
- BRS podem ter um papel indireto na reação de corrosão pela produção de compostos químicos agressivos ou do produto final do seu metabolismo como sulfetos, bissulfetos e sulfeto de hidrogênio. Os produtos intermediários são tiosulfatos e politionatos. Os parâmetros físico-químicos de meios aquosos como pH, composição iônica e níveis de oxigênio, podem mudar a influência de BRS na corrosão de agressiva para passivante;
- efeitos catódicos previamente atribuídos a atividade de hidrogenase ou de filmes de sulfeto de ferro, podem ocorrer posteriormente à quebra de passividade, por exemplo, enquanto o ataque pela corrosão é progressivo;
- em meios marinhos, o efeito de sulfetos biológicos é aumentado pelos ânions cloreto presentes na água.

As BRS são objeto de estudo também em outras áreas de pesquisa, como por exemplo um estudo realizado por Beech e Cheung (1995) em que foi explorado um aspecto positivo da produção de H_2S por BRS foi explorado; a utilização em bioreatores anaeróbicos usado para tratamento de efluentes contendo metais pesados. Os resultados mostraram que o H_2S gerado por bactérias reage com os metais solúveis e forma sulfetos de metais insolúveis. Neste estudo foi investigado o efeito de cromo, níquel e molibdênio no crescimento e produção de exopolímeros, com ênfase na complexação destes metais.

2.1.3 Sulfeto de Hidrogênio

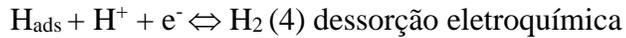
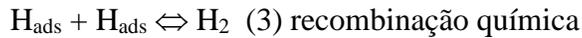
O sulfeto de hidrogênio (H_2S) produzido pelas BRS pode aumentar a absorção de hidrogênio no metal. A quantidade de hidrogênio que entra no metal normalmente é pequena, mas existem certas substâncias como o FeS que contribuem para diminuição da formação do hidrogênio molecular na reação catódica e assim, facilitam a entrada de hidrogênio, em alguns casos, aumentando em 90% a quantidade de hidrogênio que se dissolve no metal.

As concentrações de H_2S podem variar, dependendo do meio. O biofilme pode dificultar as medidas devido a barreira que forma entre a superfície e o seio da solução, encapsulando os metabólitos e então dentro desta estrutura as medidas além de serem difíceis de realizar podem variar consideravelmente. No entanto, Edyvean (1991) destacou em seu trabalho alguns níveis de concentração de H_2S que foram medidos pelo método iodométrico. Em meios de cultura, níveis acima de 2000 ppm foram detectados; esta concentração pode ser tóxica para os próprios microrganismos que o produzem. Porém, em sistemas reais, como plataformas de produção de óleo, foram detectados de 15 a 800 ppm dependendo da disponibilidade de nutrientes. Níveis entre 15 e 100 ppm foram determinados “in situ” nas estruturas das plataformas. Níveis acima de 800 ppm foram determinados na água do mar em decomposição que é a condição similar ao que pode ocorrer no “fouling” marinho. O consenso atual é que para situações reais, a solução que contém entre 50 e 200 ppm de H_2S pode ser representativa para condições de BRS na superfície do metal.

Segundo Rosenfeld (1981), dependendo do pH da solução, o H_2S pode estar de várias formas. Em valores de pH baixo (< 6) o H_2S molecular é predominante, em meios neutros a maior ocorrência é de HS^- e em valores de pH alcalino o S^{2-} . Os bissulfetos HS^- possuem valores de solubilidade altos enquanto que os sulfetos são menos solúveis; por esta razão, nos processos de corrosão, o sulfeto de ferro é o composto predominante, acumulando-se na superfície metálica.

Íons sulfeto (HS^-) aumentam a corrosão através do estímulo da dissolução anódica, como também impedem a recombinação do hidrogênio atômico para a forma de hidrogênio molecular, quando estão na presença do ferro. As reações abaixo mostram o mecanismo proposto para a reação de hidrogênio para soluções ácidas e alcalinas (Iofa, 1981):

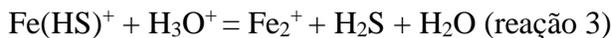
Reações catódicas



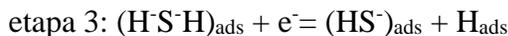
O H_2S interfere com as reações (3) e (4) inibindo a formação de H_2 , e na presença de ferro ocorre a formação do filme de sulfeto de ferro na superfície metálica.

Depois que o hidrogênio entra no metal, a velocidade de difusão é rápida (a taxa de difusão do hidrogênio no aço é da mesma ordem da difusão do sal na água). Dentro do metal, o hidrogênio pode ser acumulado em vazios ou lacunas, e pode se recombinar formando a molécula de H_2 aumentando assim o seu volume, ou por outros mecanismos, incentivar a fratura no material.

Dentre os mecanismos propostos para explicar a intensificação da reação anódica do ferro pelo H_2S , Iofa (1981), sugeriu as seguintes reações anódicas:



Para explicar a absorção do hidrogênio pelo ferro e aços na presença de H_2S foram sugeridos alguns modelos. Iyer et al. (1989), apresentaram um resumo destes modelos, com a seguinte seqüência de etapas: (reações catódicas)



Neste modelo as etapas 1 e 2 são quase irreversíveis e a etapa 3 é considerada limitante de velocidade.

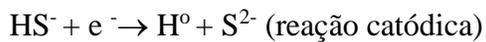
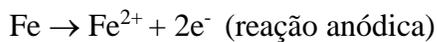
Segundo Henshaw (2001), o H_2S é tóxico à vida animal mesmo em baixas concentrações.

O limite para soluções aquosas e salinas é de 0,5 ppm. O sulfeto (HS^-) em água de resíduos

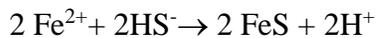
é corrosivo e tem um odor desagradável. A forma mais reduzida do enxofre HS^- necessita de uma alta demanda de oxigênio, 2 mol O_2 / mol S^{2-} resultando na diminuição de oxigênio onde este despejo ácido é descarregado.

2.1.4 Sulfeto de Ferro

A formação de sulfeto de ferro em meios alcalinos, se dá pela reação anódica de corrosão do ferro e a redução do HS^- para hidrogênio atômico, de acordo com as reações:

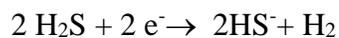


O sulfeto de ferro não estequiométrico é formado na superfície do metal pela seguinte reação:



A liberação de hidrogênio gasoso, proveniente da recombinação de hidrogênio atômico da superfície é retardada pela presença de íons sulfeto. Como resultado, aumenta a concentração de hidrogênio atômico que poderá ser posteriormente absorvido pelo material metálico.

A corrosão pode ocorrer em meios anaeróbicos na presença de sulfeto devido a despolarização catódica segundo a reação :



Neste caso, pode haver um decréscimo do sobrepotencial do hidrogênio.

Em muitos trabalhos citados na literatura, encontra-se que em alguns casos o filme de FeS apresenta característica passivante quando se forma na superfície do metal, e em

outras situações pode acelerar a dissolução anódica do ferro. Ma et al. (2000) estudaram a influência do H₂S na corrosão do ferro em diferentes condições. Através de medidas de impedância eletroquímica constataram que se formará o filme protetor de FeS nas seguintes condições: concentração de H₂S abaixo de 0,04 mmol dm⁻³, pH da solução de estudo entre 3 – 5 e tempo de imersão das amostras de ferro maior que 2 horas. Porém, deve-se observar que a faixa de pH em que ocorre esta característica protetora é restrita. Em outro trabalho Ma et al. (1998) descreveram que os resultados dos experimentos mostraram que a adição de H₂S na solução de ácido sulfúrico acelerou a dissolução anódica e a reação catódica de liberação de hidrogênio na superfície do aço, diminuindo o potencial de corrosão. Estes resultados estão relacionados com o pH da solução, que neste caso era de 0,75.

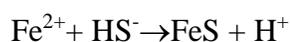
Estas considerações foram feitas para meios estéreis, porém nos meios em que bactérias estejam presentes também se observa a formação deste filme. Entretanto, podem ocorrer outras situações como a aderência de bactérias sobre o filme, tornando-o menos estável, o que pode provocar o deslocamento de partes do filme de FeS em determinadas áreas e propiciar a corrosão por frestas.

Com a finalidade de estudar o filme de sulfeto sobre a superfície metálica, Daumas et al. (1988), realizaram experimentos com uma bateria biológica, isto é, duas células eletroquímicas em que as comparações foram feitas utilizando o mesmo meio, sendo um estéril e outro contendo BRS. A finalidade do trabalho foi de investigar qual o mecanismo envolvido e determinar sua influência no processo de corrosão bacteriológica. Os mecanismos testados foram:

1 – Despolarização catódica via oxidação biológica de hidrogênio formado na superfície do metal polarizado:



2) Estimulação anódica por precipitação de íons ferro produzidos no ânodo com sulfeto biológico:



3) Formação de uma célula galvânica entre o metal livre de precipitados e o precipitado de sulfeto de ferro, que atua como um cátodo, conseqüentemente acelerando a reação catódica. O H_2S , nestes ensaios, poderia atuar sobre os dois eletrodos, já que ocorria a difusão através de uma membrana de diálise. Num primeiro momento, o eletrodo exposto ao meio estéril se tornou o polo positivo da bateria – o cátodo, e o biótico tornou-se o ânodo, passando a se dissolver. Isto foi detectado apenas com o H_2S produzido pela pré-cultura, porém esta estimulação anódica foi apenas temporária, já que, depois de algumas horas de crescimento das BRS os pólos inverteram-se. O potencial de corrosão estabilizou-se depois do final da fase de crescimento exponencial dos microrganismos e permaneceu constante a partir daquele ponto. As duas células tendem a igualar os potenciais. O eletrodo exposto diretamente à atividade de BRS é progressivamente recoberto pelo precipitado de FeS , e depois de um determinado tempo, o eletrodo do meio estéril também apresenta um filme e as superfícies dos dois eletrodos se tornam idênticas. Este experimento mostra que o FeS é mais catódico de que o ferro, e principalmente o eletrodo imerso na cultura de BRS se torna mais catódico durante a fase de crescimento bacteriano. Este trabalho sugere que a oxidação do hidrogênio catódico pela bactéria é o mecanismo dominante, porque em outro ensaio em que foi adicionado o sulfeto dissolvido não ocorria o aumento da reação anódica de despolarização.

Edyvean (1991) corrobora os resultados de que o sulfeto de ferro acarreta sérios problemas de corrosão, mas também cita que em meios com pH neutro o sulfeto de ferro tende a precipitar como um filme protetor na superfície do metal, e que a taxa de corrosão pode diminuir. Cita, entretanto, que após um longo tempo de exposição à ação bacteriana este filme primeiramente protetor torna-se não aderente o que provoca um aumento da taxa de corrosão, como era de se esperar. A natureza cristalográfica dos filmes de sulfeto é variada e tem sido muito pesquisada e debatido o grau de proteção oferecido pelas diferentes estruturas de sulfeto de ferro. A principal mudança no aumento da corrosão ocorre no aço pela perda da homogeneidade do filme de sulfeto, e conseqüente formação de uma célula galvânica na qual o sulfeto de ferro é catódico em relação ao aço.

Considerando que a bactéria *Desulfovíbrio desulfuricans*, por intermédio de uma enzima, a hidrogenase, utiliza o hidrogênio atômico gerado nas áreas catódicas, como agente

reduzidor para transformar sulfato, sulfito e bissulfito em sulfeto, o hidrogênio lançado pela reação catódica é também uma possível origem para a redução de íons sulfato, que estejam presentes no meio e, desta forma possam ser utilizados como aceptores terminais para elétrons durante o desenvolvimento da colônia de microrganismos (Edyvean et al., 1995).

2.1.5 BRS e a Corrosão Tipo Pite

Como citado anteriormente (item 2.1.1) a presença do biofilme pode alterar a forma de corrosão. No caso de bactérias aeróbias *Pseudomonas aeruginosa* ensaios com aço baixo carbono em meio salino diluído, mostraram que estes microrganismos mesmo num meio com baixa disponibilidade nutricional desenvolveram um biofilme significativo sobre as amostras metálicas, e foi observado nos corpos de prova corrosão tipo pite num meio onde é característica a corrosão generalizada (Birriel, 1993).

Segundo Rao et al. (2000) e Starosvestsky et al. (2000), a presença de BRS e do H₂S gerado metabolicamente pode ter forte influência na forma de corrosão localizada já nas primeiras horas de contato com a superfície metálica. Os sulfetos pode induzir a formação de pites no aço em soluções sem a presença de íons cloreto.

Num estudo desenvolvido por Colin et al. (1995), foi investigado o aço inoxidável 304L. Os ensaios foram realizados num período de 10 meses em uma planta piloto com dois circuitos onde circulava água de rio com alta concentração de cloretos: num circuito circulava água estéril e em outro água de rio natural. Este trabalho tinha como objetivo determinar a influência dos parâmetros puramente físico-químicos em comparação com os processos biológicos. A comparação foi feita utilizando medidas microbiológicas e eletroquímicas nos dois circuitos e os resultados mostraram que a corrosão tipo pite foi verificada nos dois, porém foi mais significativa naquele com água não esterilizada. De acordo com os resultados dos experimentos o processo de corrosão foi induzido e/ou acelerado nestas condições. Estes resultados corroboram o trabalho de Videla (2000), principalmente em relação ao item v.

Telles (1994) cita que materiais não ferrosos como o níquel comercial e o metal monel apresentam elevada resistência à corrosão em contato com a atmosfera, água e vapor, no entanto, um estudo desenvolvido por Angell e Urbanic (2000) mostrou que as ligas de níquel 800 e 825, usadas para tubos de trocadores de calor também apresentam corrosão localizada em meio aquoso contendo BRS. Segundo os autores, os microrganismos têm um papel importante nos depósitos de produtos de corrosão dos trocadores de calor de ligas austeníticas. As bactérias sésseis produzem polímeros extracelulares que promovem o desenvolvimento de depósitos e, sob estes, produzem condições para a existência de colônias de bactérias anaeróbicas, especialmente as BRS que convertem o sulfato a H_2S , que é um iniciador de pites. Neste estudo também é sugerido que o H_2S pode ser subsequentemente oxidado a tiosulfato, que é um ativador mais agressivo para corrosão do tipo pite. O abaixamento do potencial de repassivação aumenta a susceptibilidade do material à corrosão por fresta.

2.2 Materiais Utilizados em Meios com H_2S

A corrosão sob tensão pelo H_2S , principalmente nos tubos de revestimentos utilizados na indústria do petróleo, é consequência de diversos fatores que se relacionam entre si, sendo classificados como: ambientais, metalúrgicos e aos níveis de tensão. Saliés (1989), mostra a composição química destes aços utilizados na prospecção do petróleo. O tratamento térmico que o aço sofre no processo de fabricação determina a sua estrutura e ambos determinam a capacidade de resistência à corrosão sob tensão pelo H_2S . Os tubos resistentes à ação do H_2S sofrem dois processos de tratamento térmico: a têmpera e o revenido. A têmpera produz no aço um aumento do limite de escoamento, permitindo suportar maiores pressões. Produz uma estrutura martensítica, a qual dificulta a penetração do hidrogênio devido a redução dos espaços interatômicos. Nos tubos de revestimento para trabalhos em operações com H_2S é exigido que a sua estrutura atômica seja 100% martensítica. Porém, este tratamento térmico gera uma estrutura de elevada fragilidade e então deve-se realizar o revenido para atenuar esta dureza e tornar a estrutura martensítica-revenida mais uniforme, reduzindo as tensões residuais da formação da martensita sem prejudicar a resistência do aço.

2.3 Métodos de Proteção da Corrosão Induzida Por Microrganismos

Segundo Videla (1996), para manter um sistema industrial livre dos efeitos da biodeterioração é necessário manter este sistema limpo. Entretanto, sabe-se que este propósito é muito difícil de ser realizado na prática. Este autor classificou os métodos de proteção em físicos e químicos. Entre os métodos físicos existem os abrasivos e não abrasivos, como esponjas que são freqüentemente utilizadas nas indústrias. Os métodos abrasivos podem causar problemas com os filmes protetores e o segundo não é efetivo com biofilmes. Outros métodos físicos são vapor d'água, radiação ultravioleta ou ultrassom, que são geralmente muito caros e suas aplicações são limitadas para certos tipos de biofilmes.

Com referência aos métodos químicos, o mais comumente utilizado para controlar os problemas de biocorrosão em sistemas de águas industriais é o uso de biocidas. Estas substâncias podem ser oxidantes e não oxidantes. Cloro, ozônio e bromo são três típicos agentes oxidantes.

Esta área da CIM é muito ampla com inúmeros trabalhos que enfatizam o tipo de material metálico e/ou a gama de microrganismos que pode ser monitorada. Estudos com o uso de biocidas específicos para BRS foram realizados por Beech et al. (1994), Beech et al. (1996) e Bento (2001).

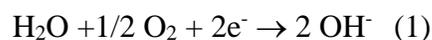
No caso da utilização de proteção catódica por corrente impressa para proteção de estruturas submersas ou enterradas, encontra-se na literatura que em meios contaminados com microrganismos, é necessário manter o potencial mais negativo do que em meios estéreis para se conseguir uma efetiva proteção do metal. Uma das causas deste aumento de corrente é devido a presença do biofilme na superfície do metal. Um outro fator de extrema importância é que as reações eletroquímicas catódicas de redução de hidrogênio poderão favorecer a maior concentração de hidrogênio próximo a superfície do metal e por conseguinte a sua possível adsorção e absorção (Saravia et al., 1997).

Waltkings et al. (1996) citam que a presença do biofilme na superfície do metal afeta suas propriedades eletroquímicas, e influencia a termodinâmica e a cinética da reação de

redução do oxigênio. Isto conduz ao aumento do potencial de corrosão a circuito aberto devido ao biofilme, o que muda a curva de polarização catódica para potenciais mais altos, e resultando assim na exigência de correntes mais altas para manter a devida proteção catódica. Citam ainda que, até mesmo as baixas densidades de corrente usadas para proteção do aço inoxidável em solução salina, quando havia a presença de um biofilme pré existente, não foram suficiente e como conseqüência foi necessário um aumento de corrente. Segundo os autores, isto acontece porque quanto mais eletronegativo o potencial aplicado em meios anaeróbios, o hidrogênio que é gerado no cátodo irá favorecer a atuação da enzima hidrogenase positiva nos sedimentos que circundam o metal, facilitando assim o desenvolvimento de certas espécies de BRS. Os resultados deste trabalho com eletrodos de aço carbono e meio Postgate C diluído e água do mar artificial testando duas espécies de BRS revelaram que o potencial aplicado de $-800 \text{ mV}_{(\text{ECS})}$ não foi efetivo contra a aderência, o mesmo acontecendo com o potencial de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ECS})}$ nas 3 primeiras horas de polarização, sendo que uma redução do número de células aderidas ocorreu somente depois de 24 horas de polarização. A diminuição do grau de colonização à superfície metálica somente foi obtido com a aplicação do potencial de $-1200 \text{ mV}_{(\text{ECS})}$. Os autores atribuem a baixa colonização neste potencial devido a um drástico aumento do pH e a grande liberação de H_2 na superfície. A geração de bolhas de H_2 poderia destruir o biofilme pré existente, facilitando a remoção das células da superfície e prevenindo a futura adsorção de células que estão no seio da solução. As desvantagens, segundo os autores de usar um potencial tão baixo é o custo elevado e nestes casos o hidrogênio gerado poderia levar a fragilização da estrutura do aço. Um outro fator a ser considerado é que esta molécula de H_2 poderia ser usada como origem de energia para as BRS promover seu crescimento.

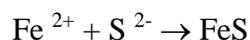
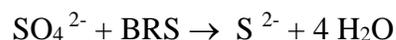
Kasahara et al. (1995) realizaram ensaios para determinar a efetiva proteção catódica em amostras de tubulação de aço enterrada em solos microbiologicamente agressivos com BRS. Os potenciais testados foram de $-0,65$ e $-1,3 \text{ V}_{(\text{Cu}/\text{CuSO}_4)}$. Os autores investigaram a causa de trincas devido a células de ação local e demonstraram que outros tipos de bactérias como as oxidantes do ferro, oxidantes do enxofre e ferro bactérias podem ter um papel significativo na corrosão de tubulações enterradas. Em outros trabalhos, os resultados das taxas de corrosão sem aplicação de potencial mostraram que a contribuição da BRS é de

pequena importância em processos de corrosão no solo e que os valores das taxas de corrosão decrescem consideravelmente com aplicação de potenciais de $-0,85$ V. A conclusão preliminar deste trabalho foi que a proteção catódica, neste caso, era completa ou praticamente suficiente em solos contaminados por bactérias. Porém, segundo os autores, podem ocorrer mudanças no meio durante a utilização deste método de proteção, tais como o pH e aeração que poderiam influenciar significativamente na proliferação da atividade das bactérias envolvidas no processo de corrosão do solo. O resultado desta investigação mostrou que as BRS foram as únicas bactérias detectadas e quantificadas nos potenciais de $-0,85$ V, e $-1,30$ V embora com a atividade fortemente reduzida. Além da contagem de BRS, um filme fino de FeS foi detectado na superfície de todos os eletrodos de trabalho. Outro fator que é esperado com o uso de proteção catódica é que os valores de pH aumentaram com o aumento do potencial aplicado, em torno de 8,0 com a aplicação de $-0,85$ V. As mudanças no pH e a formação do FeS podem ser relacionados com as seguintes equações:



o que sugere que o pouco suprimento de oxigênio nestes solos estudados pode ser insuficiente para a reação (1) ocorrer, então a reação (2) torna-se a mais importante. Com o consumo do oxigênio pela equação (1) o meio modifica-se e passa a ter maiores áreas de anaerobiose aumentando a proliferação das BRS.

Embora as reações catódicas aumentem a alcalinidade que pode se acumular no solo muito próximo a superfície do eletrodo de trabalho, os valores não são suficientes para diminuir a atividade de BRS. E, assim as seguintes reações poderiam ocorrer:



Desta forma poderia ser explicada a ocorrência do filme de FeS em condições de aplicação de proteção catódica. Os autores concluíram que a proteção catódica em solos contendo BRS deve ser em potenciais mais negativos que $-0,85$ V, e que esta eficiência pode ser associada ao efeito sinérgico do filme de FeS e a corrente catódica impressa.

2.4 Efeitos do Hidrogênio em Materiais Metálicos

A origem do hidrogênio junto ao material metálico pode ser devido ao processo de corrosão ou de operações industriais, quer sejam metalúrgicas, químicas, mecânicas ou físicas. Depois que o hidrogênio é absorvido pelo metal, pode estar na forma atômica intersticial, como elemento solúvel, como uma molécula de gás presa em um vazio ou outro defeito espacial ou como um composto químico, geralmente um hidreto.

Como resultado da presença do hidrogênio, os metais e ligas podem apresentar degradação de suas propriedades mecânicas. Frequentemente, a etapa determinante para este fenômeno envolve o processo de difusão do hidrogênio para vazios ou regiões de tensão (Blundy, 1977).

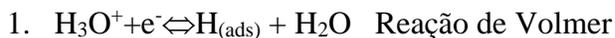
Muitas reações e processos que são importantes no tratamento de materiais metálicos dependem da transferência de massa, seja no interior de um sólido, a partir de um líquido, de um gás ou de outra fase sólida. A difusão pode se dar como uma migração em etapas dos átomos de um sítio para outro do retículo cristalino. Estes movimentos podem ocorrer por vacâncias e por difusões intersticiais. A difusão intersticial ocorre com átomos como os de hidrogênio que são suficientemente pequenos e podem se encaixar no interior das posições intersticiais.

Em meios em que o hidrogênio possa ser dissolvido podem ocorrer as seguintes situações:

- a) adsorção na superfície do metal e posterior absorção;
- b) formação da molécula de H_2 na superfície metálica;
- c) envolvimento do hidrogênio em outras reações na superfície do metal (Edyvean et al., 1998). Em água do mar, por exemplo, poderá ocorrer a formação de camadas protetoras de $Ca(OH)_2$ e $Mg(OH)_2$ e produtos de corrosão, os quais no futuro poderão limitar a entrada de hidrogênio para o metal.

2.4.1 Adsorção e Absorção do Hidrogênio em Metais

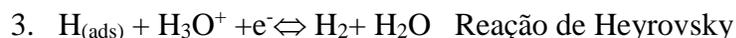
O mecanismo de liberação e ionização do hidrogênio é baseado em três reações:



O átomo de hidrogênio adsorvido pode formar a molécula de H_2 através de dois caminhos diferentes. A primeira é a reação de recombinação de dois átomos de hidrogênio:



A segunda é de dessorção eletroquímica de $\text{H}_{(\text{ads})}$ e é baseada na reação do átomo de hidrogênio adsorvido com o íon H_3O^+ e um elétron:



De acordo com Koryta et al. (1970), as taxas relativas destes processos dependem da energia livre de Gibbs da adsorção do átomo de hidrogênio, que é função da natureza do material do eletrodo e de sua estrutura.

A velocidade relativa das três reações determinam os mecanismos de liberação e formação de H_2 e qualquer uma destas reações parciais poderá ser a determinante de velocidade.

2.4.2 Tipos de Fraturas Associadas com o Hidrogênio

Após a absorção do hidrogênio em meios ácidos, os seguintes tipos de fraturas podem ocorrer:

- empolamento pelo hidrogênio (hydrogen blistering): causa delaminação do aço. Ocorre quando os átomos de hidrogênio se difundem para dentro do material e em algum vazio sub-superficial se recombina formando moléculas gasosas próximas a inclusões ou outros defeitos que exercem uma grande pressão causando fratura. Quando a temperatura ultrapassa 200 a 300 °C, o hidrogênio pode reagir com o carboneto de ferro presente nos aços ao carbono e formar metano (CH₄). Essa descarbonetação do aço reduz a quantidade de carbonetos e, portanto, a resistência mecânica do material (Gemelli, 2001). Se a pressão de metano nas cavidades internas do metal tornar-se elevada, fissuras ou bolhas (empolamento) podem aparecer mesmo na ausência de tensões externas. O fenômeno de empolamento ocorre principalmente em aços dúcteis, especialmente sobre o aço doce. Pode acontecer quando o metal é sujeito a tratamentos superficiais como na decapagem ou em processos de eletrodeposição, onde ocorre uma sobressaturação de hidrogênio na superfície do material.
- fratura ou trinca induzida pelo hidrogênio (hydrogen induced cracking HIC): Ocorre pelo mesmo mecanismo de empolamento (Edyvean, 1991), porém se o material é frágil ou pouco dúctil e assim não pode aliviar a pressão de gás por deformação plástica ocorre a fissuração, mesmo na ausência de uma tensão externa. Este tipo de fratura pode ser influenciado externamente pelos seguintes fatores que atuam no comportamento de HIC (Coudreuse e Charles, 1987), quais sejam, a natureza da solução, concentração de H₂S, pH, reações eletroquímicas, temperatura e tempo de exposição. Estes fatores atuam na atividade do hidrogênio e na cinética de absorção. Os parâmetros metalúrgicos que influenciam são os seguintes: composição química (Cu, Ni, S, P), microestrutura, inclusões (número, forma e distribuição), segregação, defeitos (carbonetos, discordâncias e contornos de grão) e tensões internas.
- trincas a frio: as propriedades dos aços carbono são muito influenciadas por pequenas variações na composição química (Telles, 1994). Aumentando a quantidade de carbono ocorre um aumento na dureza e nos limites de resistência e de escoamento do aço e uma redução na ductilidade, traduzida por uma diminuição no alongamento. À medida que aumenta a quantidade de carbono aumenta também a temperabilidade do aço que é a

possibilidade da formação da martensita, o que torna a sua soldagem cada vez mais difícil, devido a tendência ao endurecimento e o aparecimento de trincas na região termicamente afetada pela solda. Essas trincas são devidas ao hidrogênio retido nas soldas, proveniente do revestimento do eletrodo. A susceptibilidade a essas trincas é favorecida para aços com percentagem de carbono acima de 0,3%, sendo neste caso recomendado o uso de eletrodos de “baixo hidrogênio” nas soldas, e também o pós aquecimento das soldas, para promover ou apressar a liberação do hidrogênio.

- corrosão sob tensão (hydrogen induced stress cracking, HISC): segundo Cragnolino (1972) geralmente nos meios que provocam a corrosão sob tensão, a maior parte da superfície está passivada, apresentando somente uma ruptura localizada. Dependendo de como as fissuras avançam no metal, se distinguem dois modos diferentes de propagação: intergranular e transgranular. No primeiro a trinca se propaga seguindo os limites de contorno de grão; e no segundo modo a trinca se propaga entre os grãos do metal, em muitos casos seguindo planos cristalográficos definidos, ou seja, planos de clivagem. Dependendo do sistema metal/meio corrosivo se observa um ou outro modo de propagação e em alguns casos pode ocorrer a presença simultânea dos dois tipos de trincas. Os principais fatores que afetam a corrosão sob tensão são as tensões mecânicas, o potencial eletroquímico, propriedades dos meios corrosivos e propriedades metalúrgicas do metal. Este tipo de corrosão requer uma tensão externa e a presença de um meio corrosivo. A presença de H₂S reduz significativamente a tensão requerida para produzir a fratura. Este fenômeno tem maior importância para os aços de média e alta resistência mecânica, porque na presença de hidrogênio a resistência à ruptura destes aços diminui consideravelmente, podendo tornar-se inferior a de um aço de baixo teor de carbono.
- corrosão-fadiga: (hydrogen induced fatigue cracking, HIFC) ocorre devido aos efeitos combinados de um meio agressivo e solicitações cíclicas, criadas por vibração mecânica ou ação de ondas, este é um exemplo considerável em estruturas “offshore”. O material é fragilizado, facilitando a propagação da fissura. Se o hidrogênio resulta de uma reação de corrosão na ponta de uma fissura, então trata-se de uma fissuração por corrosão sob fadiga devida ao hidrogênio (hydrogen induced fatigue corrosion cracking, HIFCC).

Vários fatores têm sido estudados que podem interferir na difusão, solubilidade e permeabilidade do hidrogênio em metais. Segundo Warren (1987), a solubilidade de hidrogênio em metais é função de sua forma física, da rede cristalina, dos elementos de liga, temperatura e pressão parcial de hidrogênio no meio. Em amostras de ferro puro, a solubilidade do hidrogênio é pequena a temperatura ambiente, mas tem um acréscimo significativo com o aumento da temperatura e com as mudanças da rede cristalina (ccc para cfc) até a temperatura de fusão do ferro onde alcança a maior solubilidade. O sistema cristalino tem maior influência na solubilidade do hidrogênio no ferro ou no aço do que os elementos de liga. O sistema cúbico de faces centradas pode conter mais hidrogênio a uma dada temperatura do que o sistema cristalino cúbico de corpo centrado.

Outro fator importante para a solubilidade é a pressão parcial do hidrogênio, dada pela Lei de Sievert: $S = K.p^{1/2}$. A relação é válida exceto para altas pressões (>120 atm) ou para altas temperaturas, já que neste caso o ataque pelo hidrogênio pode gerar CH₄ dentro da estrutura do metal.

2.4.3. Condições em que o Hidrogênio Pode Causar Fragilização

Para que ocorra a fragilização, o material metálico deve apresentar susceptibilidade ao hidrogênio, que pode ocorrer durante a fabricação ou em processos que são capazes de promover a entrada de hidrogênio no metal. Segundo Hampel (1964), o hidrogênio pode ser absorvido pelo metal nos processos metalúrgicos de fusão e na soldagem. Nestes casos, o hidrogênio provém da decomposição térmica da água (com ou sem reações com o metal) que está sempre presente na atmosfera. A absorção também pode ocorrer em condições de operação em que o material metálico está num meio que contenha H₂S, ácidos, etc.

Segundo Kimura et al. (1988), o declínio das reservas de petróleo tem causado um aumento de gases naturais ácidos que são extremamente corrosivos. Este fato tem gerado muitos problemas nos materiais metálicos utilizados, principalmente trincas induzidas pelo hidrogênio (HIC) e corrosão sob tensão em aços de alta resistência, tipo API. A HIC é particularmente importante já que seus resultados podem ser catastróficos numa condição

sem tensão aplicada e podem ocorrer num curto período de tempo. Desta forma vários fatores relacionados com o meio (pressão parcial de H_2S e CO_2) foram estudados para elucidar este fenômeno.

Miranda et al. (1984) citaram que o H_2S pode estar presente no meio como impureza natural ou como produto da redução dos íons sulfatos pela BRS do gênero *Desulfovíbrio desulfuricans*. Estes microrganismos vivem normalmente na água do mar e podem ser introduzidos nas tubulações durante as provas hidrostáticas ou na operação de bombeamento de água para dentro dos reservatórios submarinos do gás, durante a operação de recuperação do gás natural. Segundo os autores, as principais medidas visando reduzir a agressividade do gás natural com presença de ácido sulfídrico, onde podem ser utilizados inibidores de corrosão, realizar a desudimificação do gás ou utilizar revestimento interno das paredes dos tubos com pintura. Independentemente das medidas tomadas visando reduzir a agressividade do meio, a utilização de aços de alta resistência à corrosão se faz necessária.

São inúmeros os trabalhos publicados que estudaram fatores metalúrgicos e características do meio relacionadas à trincas ocorridas em tubos de aço utilizados na indústria do petróleo em meios com H_2S , entre eles podemos citar o estudo com aço API X70 Taira et al. (1981), com aços de baixa liga Asahi et al. (1989), com aço API 5 LX Bieffer (1982), API 5LX-X65 e X70 Bieffer (1976), API L80, N80, C 95 P110, 95, G 105 e S135 (Waltkings, 1986).

Além dos problemas relacionados especificamente à tubulações utilizadas nos meios citados acima, podemos citar o trabalho realizado por Kuzyukov et al. (2002) onde foram estudados dois casos de acumulação de hidrogênio em aços, primeiramente numa planta de amônia em altas temperaturas (acima de $420\text{ }^\circ\text{C}$) e pressão acima de 32 Mpa, contendo nitrogênio, hidrogênio e amônia. No segundo caso, os autores estudaram o efeito do hidrogênio num equipamento de condensação de gás e processamento de óleo contendo solução de H_2S em água. O resultado da inspeção deste tipo de equipamento usado na indústria petroquímica, foi que as fissuras pelo hidrogênio ocorriam principalmente nas juntas soldadas e no metal base foi observada delaminação. Este efeito é principalmente causado pelo efeito de hidrogênio no aço. Nestes casos de alta temperatura e pressão as moléculas de hidrogênio se decompõe em átomos na superfície do metal e pequena quantidade de hidrogênio atômico penetra no metal. Depois que o hidrogênio penetra no

metal, neste caso, na forma de tubos ele pode desaparecer do outro lado da superfície. Entretanto, se existe algum defeito estrutural, por exemplo microfissuras, ele poderá ser acumulado nesta região e retornar a sua forma molecular.

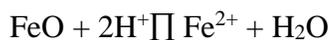
Na forma molecular o hidrogênio não pode sair de dentro do metal, sua pressão parcial aumenta e isto pode levar a microtrincas e posteriormente ao desenvolvimento de trincas. Em alguns casos estas microtrincas podem se espalhar através do metal, devido a inconsistência da camada mais externa da superfície do metal.

Também pode ocorrer processos de eliminação de carbono pela formação de metano:



que é um promotor de trincas. Existem muitas razões para explicar o desaparecimento do carbono, entre elas os elementos de liga cromo e molibdênio que podem formar carboneto em função da temperatura, e neste caso a matriz se torna pobre destes elementos. Nestes casos, pode ocorrer corrosão pelo hidrogênio. Na fase inicial deste trabalho, as análises mostraram que os carbonetos continham 20,9% de Mo, depois de 20 anos de operação esta taxa aumenta para 43,3%. Estas mudanças irreversíveis na estrutura dos metais resulta na formação de trincas em tubos de gás.

Problemas com hidrogênio podem ocorrer em processos de preparação das superfícies metálicas como a decapagem ácida, na qual a utilização de soluções aquosas de ácidos para retirar a carepa ou escama de laminação, com a finalidade de permitir uma boa aderência do revestimento a ser aplicado (Gentil, 2003). Esta casca de laminação contém os seguintes óxidos: FeO, Fe₃O₄ e Fe₂O₃, sendo que o mais solúvel é o FeO. Este óxido é também o que se encontra mais adjacente à superfície do metal, ocorrendo então na decapagem ácida, a reação:



Com a solubilização da camada de FeO, as outras camadas de óxido se desprendem expondo o material metálico à ação do ácido. Esta reação traz alguns inconvenientes como o consumo excessivo de ácido, consumo do metal, arraste de vapores ácidos e possibilidade de fragilização do metal e empolamentos causado pelo hidrogênio. Uma das formas de diminuir esta agressividade é adicionar inibidores de corrosão, que impedem o desprendimento de

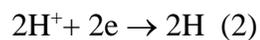
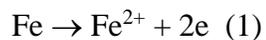
hidrogênio. Esses inibidores são adsorvidos no metal à medida que se remove a camada de óxidos, protegendo da ação dos ácidos .

Em processos de revestimentos metálicos realizados em temperaturas acima da ambiente, por exemplo na esmaltagem vítrea e zincagem por imersão (Pressouyre, 1978), após o resfriamento, o revestimento se solidifica e o hidrogênio presente no meio tende a se acumular na interface metal-revestimento, promovendo neste ponto pressões elevadas. Neste caso, poderá ter como consequência a quebra do revestimento expondo o metal base a meios agressivos.

Na fosfatização (Gemelli, 2001) pode haver o ataque pela acidez livre do banho de fosfato formando uma camada de hidrogênio sobre a superfície metálica. Esta camada pode levar a fragilização pelo hidrogênio além de impedir o contato íntimo e uniforme da solução de fosfato com o metal, prejudicando a formação do revestimento.

Para estruturas metálicas submersas ou enterradas, que além dos revestimentos orgânicos utilizados para minimizar o processo de corrosão, pode ser utilizado o método de proteção catódica. Entretanto, dependendo do potencial catódico pode haver liberação de hidrogênio, e assim aumentar os riscos de fragilizar o material.

E, principalmente, como resultado do processo de corrosão do próprio aço, em meios ácidos:



Além dos processos citados, íons hidrogênio podem estar presentes no meio líquido, devido a atividade biológica de microrganismos como as BRS. Os microrganismos podem interferir diretamente pela produção de H_2S , que ao se hidrolisar acidifica o meio e indiretamente, devido à formação de biofilme.

Os fatores que podem alterar a absorção do hidrogênio podem se referir a estrutura do metal (conteúdo de carbono e processos de têmpera e revenido) ou em relação as variáveis

do meio (composição da solução, pH, ânions presentes, H₂S, densidade de corrente, temperatura e composição).

Em um trabalho realizado por Brown e Jones (1984) 29 tipos de aços foram estudados utilizando a solução NACE (Anexo 1). O papel de inclusões não metálicas, segregação do manganês e a microestrutura são descritas, bem como a importância dos parâmetros metalúrgicos no controle da trinca induzida pelo hidrogênio (HIC) em aços utilizados para oleodutos. Neste trabalho, os autores reforçam a idéia de que a HIC pode se propagar a partir de uma inclusão não metálica existente no material. A trinca, quando iniciada, desenvolve-se facilmente ao longo da microestrutura transformada a baixas temperaturas, como bandas de segregação de bainita ou martensita, cujas estruturas são muito sensíveis à fragilização pelo hidrogênio. Os aços utilizados para gasodutos em serviços com óleo ou gás ácido devem ter um baixo conteúdo de enxofre (< 0,005% ou igual a 0,002% para condições fortemente ácidas), efetivamente a forma das inclusões não metálicas deve ser controlada por adição de terras raras ou cálcio para globularizar as inclusões e assim reduzir os níveis de segregação.

Outra providência para minimizar o problema é a adição de elementos de liga. As adições de cobre, níquel e cromo podem oferecer alguma proteção sob certas condições de operação pela formação de um filme protetor que diminui a penetração de hidrogênio para dentro do substrato metálico. A resistência a HIC para gasodutos é baseada, segundo os autores, nestas duas hipóteses. Porém, estes dois cuidados não têm impedido que aconteçam problemas em serviço, por isto neste trabalho os autores quantificaram a importância de controlar os parâmetros metalúrgicos para diminuir a HIC. Os resultados dos testes mostraram que as HIC começam nas inclusões não metálicas, e que sulfetos de manganês são os iniciadores. Esta investigação confirmou também que as inclusões não metálicas são os sítios primários para iniciação da HIC, mesmo em níveis de enxofre de 0,002%, o que sugere que o abaixamento do nível de enxofre é insuficiente para eliminar a HIC. Mesmo os aços que foram corretamente tratados com terras raras ou cálcio tiveram problemas. Dois dos vinte e nove aços testados apresentaram problemas, o que indica que o baixo nível de enxofre e o controle da forma das inclusões não metálicas não podem garantir a resistência à HIC.

Uma outra providência que pode ser utilizada para minimizar este problema são os tratamentos térmicos de refino de grão, que podem tornar a propagação da trinca mais difícil. Entretanto, deve-se atentar ao fato de que o final da solidificação, que ocorre no centro da

peça, pode se tornar progressivamente rico em manganês e apresentar severa segregação desse elemento. Neste estudo, os níveis de manganês detectados nas linhas de centro das segregações foram >50%. Quanto aos elementos de liga, os resultados mostraram que o cobre não forma um filme protetor eficiente em meios com H₂S em pH menor do que 4,5. Dos elementos de liga, o mais eficiente é o cromo numa quantidade de 0.6%, que foi efetivo para promover a resistência à HIC. É importante salientar que a eficiência dos elementos de liga foi testada apenas na solução NACE e que a resistência à HIC de aços utilizados em gasoduto é determinada por um número de parâmetros metalúrgicos que atuam em combinação.

Herbsleb et al. (1981) que também estudaram HIC e corrosão sob tensão de diversos aços em diferentes pH em meios contendo H₂S, encontraram que o cobre como elemento de liga tem um efeito benéfico na resistência a HIC nos meios estudados devido à formação de filmes na superfície que restringem a adsorção de hidrogênio.

Coudreuse e Charles (1987) descrevem os diversos mecanismos que podem estar associados a presença de hidrogênio. Na Figura 2.2 pode-se observar que no topo do desenho há uma inclusão de sulfeto de manganês na ausência de hidrogênio, e não há iniciação de fresta ou fissura, já que a tensão residual e/ou aplicada $\sigma_a^0 + \sigma_R^0$ é menor do que a tensão coesiva σ_c^0 . Na presença de hidrogênio vários fenômenos podem ocorrer simultânea ou consecutivamente. A tensão aplicada pode aumentar devido à pressão de hidrogênio e também pode ocorrer distorção da rede cristalina pelo hidrogênio dissolvido. A tensão aplicada aumenta significativamente $\sigma_a^H + \sigma_R^H$ é maior do que $\sigma_a^0 + \sigma_R^0$. A tensão coesiva pode decrescer devido à decoesão e/ou efeitos na energia da superfície que σ_c^H é menor do que σ_c^0 enquanto $\sigma_a^H + \sigma_R^H$ é maior do que σ_c^H a fissura iniciará. Nota-se que não é necessário aplicar uma tensão para que o hidrogênio induza a ruptura. A tensão induzida pelo hidrogênio sozinho, ou pelo decréscimo de coesão pode ser suficiente (caso particular de HIC).

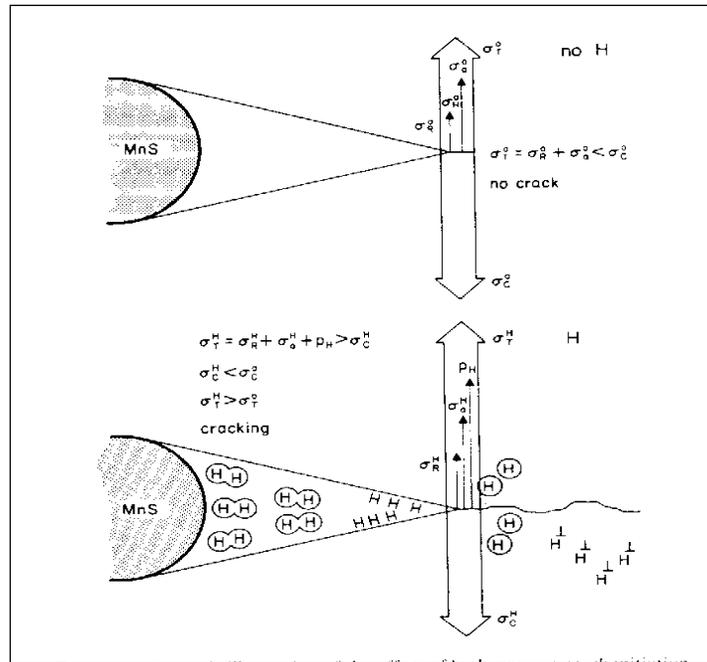


Figura 2.2 – Ilustração esquemática do efeito do hidrogênio na iniciação da fissura. (Coudreuse e Charles, 1987)

2.4.4. Método de Permeação do Hidrogênio

Uma técnica importante para medir o fluxo de hidrogênio é a permeação eletroquímica, que foi primeiramente proposta por Devanathan e Stachurski (Devanathan e Stachurski., 1962) e sua utilização é descrita em inúmeros trabalhos entre eles pode-se citar os trabalhos de Santos et al. (1993), Azevedo et al. (1999), Manolatos et al. (1998) e Ou e Wu (1997). Este método que é principalmente utilizado para determinar coeficientes de difusão do hidrogênio em membranas metálicas, também pode ser utilizado para seleção de novos materiais e para a determinação da permeação e difusão em polímeros (Stodika, 2000).

Para análise de materiais ferrosos, a técnica consiste em carregar catodicamente uma fina membrana metálica com hidrogênio de um lado, enquanto que do outro é mantido um potencial constante, suficientemente anódico para oxidar o hidrogênio que se difunde. A corrente anódica, medida entre a membrana metálica e o contra-eletródo de platina, é uma medida da taxa de hidrogênio que se difunde a partir do lado anódico.

Segundo Korita et al. (1970) o número de moles que difunde é dado pela área da seção, em cm^2 , num tempo dt e é proporcional ao gradiente de concentração das espécies difundidas:

$$\frac{dN}{dx} = KA \frac{\partial Co}{\partial x}$$

A constante de proporcionalidade K pode ser identificada como o coeficiente de difusão do:

$$\frac{dN}{dt} = DoA \frac{\partial Co}{\partial x} \quad 1^{\text{a}} \text{ Lei de Fick}$$

esta equação relaciona a taxa de difusão com a concentração.

Uma modificação desta equação é obtida se é colocada uma unidade de área:

$$\frac{dN}{Adt} = Do \frac{\partial Co}{\partial x}$$

Esta equação define o fluxo de material que é o número de moles difundido por unidade de tempo através de uma unidade de área. Este fluxo é mais freqüentemente dado pelo símbolo J , assim:

$$J = \frac{dN}{dt} = Do \frac{\partial Co}{\partial x}$$

Se se considerar a eletrólise sobre um período de tempo, bem próxima à superfície do eletrodo, é evidente que C_o e assim $\frac{\partial C_o}{\partial x}$ deve variar e, de fato, C_o decresce com o tempo, já que a espécie hidrogênio é consumida sobre o eletrodo.

Assim, se torna necessário conhecer C_o como uma função da distância do eletrodo e o tempo.

A mudança de C_o com o tempo, entre dois planos à distância x e $x + dx$ da superfície do eletrodo ($x = 0$) é a diferença entre o número de moles de Ox que entra no plano $x + dx$ e deixa o plano x , se o processo é considerado sobre a unidade de área da base do fluxo. Assim:

Da primeira Lei de Fick, o fluxo de hidrogênio do lado anódico da membrana de espessura L é dado por:

$$\text{Fluxo: } j = -D \frac{\partial c}{\partial x} \quad x = L$$

A densidade da corrente de permeação J é derivada como:

$$J = -nFD \frac{\partial c}{\partial x} \quad x = L \quad D = \frac{C}{L} zF$$

onde:

C : concentração, mol cm⁻³

n : número de elétrons envolvidos na oxidação do hidrogênio

F : constante de Faraday

D : coeficiente de Difusão

2.4.5 O H₂S Gerado pelas BRS e a Taxa de Permeação de Hidrogênio em Metais.

Um dos problemas em meios contaminados com BRS é que a formação do H₂S pode ocorrer muito próxima à superfície metálica, devido ao biofilme formado sobre a superfície metálica, é a chamada “produção de hidrogênio in situ”. Embora muitos estudos tenham sido realizados na área de corrosão microbiológica, poucos são os que enfocam a técnica de

permeação para controlar o fluxo de hidrogênio proveniente do metabolismo de bactérias. Entre estes, podemos citar o trabalho de Obuzor et al. (1990), que estudou o “fouling” marinho sobre estruturas de aço utilizadas em plataformas de produção de gás, enfocando o problema do ponto de vista da corrosão-fadiga e não somente os fatores envolvidos na corrosão microbiológica. Os autores realizaram ensaios e determinaram a corrente de permeação. No consórcio utilizado, o principal macrorganismo identificado foi *Balanus crenatus* o qual desenvolveu um fouling que decresceu a taxa de entrada do hidrogênio em 50%. Estes resultados foram atribuídos a baixa atividade de BRS nestes experimentos e porque estes microrganismos atuaram como uma “barreira” do lado de entrada do eletrodo de baixo carbono.

Edyvean (Edyvean e Benson, 1995) estudou o aço BS4360 utilizando a técnica de permeação de hidrogênio em água do mar artificial. Utilizou como meio para o desenvolvimento das BRS uma solução a partir da decomposição natural de algas marinhas, juntamente com uma cultura ativa de BRS. Também foram realizados ensaios em meios abióticos. Neste estudo foi encontrado que o H_2S biótico tem um efeito mais pronunciado do que o equivalente H_2S produzido artificialmente, sendo que a produção de sulfeto no biofilme poderia ser suficiente para ter um efeito considerável na susceptibilidade do aço testado. O autor cita que os níveis de H_2S encontrados, entre 50 e 200 ppm podem ser representativos de condições de atividade da BRS na superfície do metal e que os meios em que estejam presentes estes microrganismos poderiam levar a uma corrosão-fadiga devido ao efeito combinado de meio agressivo e tensão. As curvas dos ensaios de permeação indicam que inicialmente há um aumento no fluxo de hidrogênio e, após este período, o nível de corrente de permeação tende a decrescer gradualmente. Este fato pode ser explicado pela formação de depósitos na superfície do lado de carregamento do eletrodo de trabalho, que podem interromper a passagem de hidrogênio nas membranas do material metálico testado.

Thomas et al. (1988) realizaram ensaio de fadiga para simular o meio em que as estruturas metálicas das plataformas “offshore” se encontram, com H_2S biótico e abiótico, enfatizando a combinação da atividade microbiana encontrada no “fouling” marinho, a oscilação das ondas que geravam um carregamento cíclico e o meio agressivo que pode resultar numa fratura prematura dos componentes das estruturas. Os resultados mostram que

a corrosão-fadiga pode aumentar consideravelmente com o H₂S produzido biologicamente, mesmo com níveis relativamente baixos .

Além do método de permeação eletroquímica, outras técnicas eletroquímicas também são importantes para determinar a influência do hidrogênio gerado por BRS em substratos metálicos. Neste trabalho foi investigado a influência do hidrogênio em amostras de ferro Armco e aço SAE 4140, e foram realizados outros ensaios eletroquímicos, como curvas de polarização potencioestáticas, determinação do transiente de corrente em função do potencial fixo aplicado e ensaios de tração baixa taxa de deformação.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Identificação e Contagem do Consórcio Microbiano.

O inóculo original utilizado neste trabalho foi isolado de um tanque de combustível (Englert, 1998a, 1998b). A contagem e identificação dos microrganismos foi feito pelo Fachhochschule de Konstanz (Escola Técnica Superior) na Alemanha.

3.1.1 Meios Bacteriológicos

Foram utilizados os meios de cultura Postgate B (Postgate, 1981) (PGB) para manutenção do consórcio de microrganismos e pré-inóculo e o meio Postgate C (Postgate, 1981) (PGC) para realização dos ensaios eletroquímicos e de permeação. (Composições químicas Anexo 2).

Também foram utilizados o meio Postgate E e agar nutritivo para observar as contaminações anaeróbicas e aeróbicas, respectivamente, com alíquotas retiradas durante e/ou após a realização dos ensaios.

3.1.2 Contagem das BRS Utilizando a Técnica do Número Mais Provável (NMP)

O método do número mais provável NMP (Alexander, 1982) permite estimar a densidade da população sem a contagem das células isoladas ou em colônias. Este é o método de diluição por extinção ou simplesmente método de diluição. A técnica é baseada na determinação da presença ou ausência de microrganismos em várias porções individuais de consecutivas diluições da amostra, que pode ser de meios líquidos ou amostras de solo.

Um pré requisito para a utilização do método é que o microrganismo da população a ser determinada desenvolva alguma característica que rapidamente seja identificada no meio em que está sendo inoculado, e que depois da multiplicação este microrganismo seja facilmente identificado.

É possível calcular o número de tubos positivos e negativos que contém uma certa quantidade de amostra e multiplicando-se o resultado por um fator de diluição obtém-se o NMP da amostra.

A equação geral de Halvorso e Ziegler para calcular o NMP de microrganismos com base no número de tubos positivos e negativos é:

$$a_1 n_1 + a_2 n_2 + a_3 n_3 = \frac{a_1 p_1}{1 - e^{-a_1 x}} \frac{a_2 p_2}{1 - e^{-a_2 x}} \frac{a_3 p_3}{1 - e^{-a_3 x}}$$

onde os subscritos 1,2 e 3 são referentes a primeira, segunda e terceira diluições; a_1 , a_2 e a_3 são as quantidades da amostra original inoculadas; p_1 , p_2 e p_3 número de tubos que apresentaram crescimento; e é a base de logaritmo natural e x é o número mais provável de organismos presentes na quantidade de inóculo adicionada na segunda diluição. Multiplicando x pelo fator de diluição se obtém o número mais provável de organismos na amostra original.

Para aplicação prática, existem tabelas de NMP para uso de combinações particulares de a e n . Estas tabelas listam o número mais provável associados com várias combinações observados de p_1 , p_2 e p_3 .

Os ensaios do NMP foram realizados para determinação das BRS do pré-inóculo e do meio utilizado nos ensaios (PGC + 10 mL de PGB). Para a determinação do número de células de BRS do pré-inóculo foi feita uma solução matriz, que é uma solução pré-diluída, onde adicionou-se 10 mL do inóculo com 10 dias em 90 mL de meio PGB.

Para a contagem das BRS na mesma concentração dos meios utilizados nos ensaios, a determinação foi feita adicionando-se 10 mL do pré-inóculo em meio PGB em 300 mL do meio PGC. A contagem foi feita com 3 frascos 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , foram colocados 10 mL do meio PGB nos vidros e esterilizados em autoclave por 15 minutos a 121 °C. O crescimento foi observado no 3^o e 10^o dia.

Para os ensaios do NMP do meio PGC mais o inóculo do PGB, foram utilizado 5 tubos nas mesmas diluições do ensaio anterior.

As condições de assepsia foram observadas, trocando-se as pipetas a cada diluição e as transferências foram realizadas em câmara de fluxo laminar, num período máximo de 60 minutos para manter a viabilidade das células.

3.1.3. Avaliação do Desenvolvimento do Inóculo em Função do pH

Foram realizados ensaios com a finalidade de avaliar o desenvolvimento do inóculo de trabalho em diferentes valores de pH. Estes ensaios foram realizados devido a variações de pH medidos na célula de estudo durante a realização dos ensaios de permeação. Na célula de Devanathan-Stachurski do lado de carregamento do eletrodo (aplicação de potencial catódico), detectou-se valores de pH em torno de 12 a 14. Devido a este fato, testou-se o desenvolvimento do consórcio microbiano em valores de pH próximos aos medidos na célula onde foram realizados os ensaios, para se detectar a viabilidade das células do consórcio nesta condição de pH. Para tanto, alterou-se o pH do meio Postgate C com NaOH 0,1 M e em seguida foram realizadas as inoculações. Também foram retiradas alíquotas do meio dos ensaios, com o pH alterado pela alcalinidade gerada pelos potenciais catódicos e foram inoculadas em meio Postgate B com o pH original. Após a inoculação os frascos eram colocados em estufa a 28 °C e se fosse observado o

escurecimento do meio nos 2 ou 3 dias subsequentes, isto indicava que o desenvolvimento dos microrganismos era viável naqueles valores de pH. Foram ensaiados os meios bacteriológicos com os seguintes valores de pH: 9,0; 10; 11,03; 12,40 e 13,30. Os valores de pH não são exatos devido a dificuldade de acerto e também porque após a autoclavagem dos meios bacteriológicos sempre observava-se a diminuição dos valores de pH.

3.1.4 Preparação dos Meios Bacteriológicos Biologicamente Ativos

Em todos os ensaios (permeação e eletroquímicos) realizados durante este estudo utilizou-se apenas o H₂S metabólico, por isto era de fundamental importância manter os inóculos e pré-inóculos em condições que garantissem tanto o desenvolvimento quanto a manutenção dos microrganismos. O pré- inóculo foi mantido em meio Postgate B, e para a realização dos ensaios foi utilizado o meio Postgate C, por não apresentar precipitado ao contrário do primeiro.

Para obtenção do meio com microrganismos foram realizadas as seguinte etapas: primeiramente preparou-se o meio bacteriológico Postgate B, o qual foi acondicionado em frascos de 10 mL esterilizados e vedados. Depois, estes meios foram inoculados com 1 mL do consórcio microbiano em estudo e permaneciam em estufa a 28 °C. Este é o chamado pré- inóculo. (Para conservação deste pré-inóculo eram feitas repiques mensais sempre em meio bacteriológico Postgate B.)

Após o desenvolvimento do consórcio microbiano (pré-inóculo), normalmente 5 dias, observado pelo escurecimento do meio de cultura, eram transferidos 10 mL desta amostra com seringa esterilizada para 300 mL de meio bacteriológico Postgate C. Para o desenvolvimento do consórcio microbiano em meio Postgate C foram utilizados frascos Schott que permaneciam em estufa por um período de 10 dias e, se confirmando o desenvolvimento de BRS, eram utilizados para a realização dos ensaios de permeação e eletroquímicos.

Para os ensaios de permeação foram utilizados frascos de vidro tipo vasos comunicantes, porque era necessário passar o meio com as bactérias crescidas para dentro da célula de trabalho com nitrogênio.

3.2 Materiais Metálicos Utilizados

Para os ensaios de curvas de polarização, eletropermeação, corrente em função do potencial e análises de microscopia eletrônica foi utilizado ferro Armco, 99,95% de pureza.

Para os ensaios de baixa taxa de deformação, ensaios tração, corrente em função do potencial fixo aplicado e análises de microscopia eletrônica foi utilizado o aço SAE 4140. Este aço tem várias utilizações, entre elas, para a fabricação de peças para equipamentos de produção e perfuração de petróleo, e apresenta a seguinte composição química:

Tabela 3.1 – Composição química da amostra de aço

	C	Si	Mn	P	S	Cr	Mo	Ni	Al	Cu	Ti	Pb	Sn	Fe
Amostr a	0,39	0,24	0,92	0,02 5	0,01 4	0,99	0,18	0,10	0,01	0,13	0,00 7	< 0,00 2	0,00 8	≅ 97,0 0
SAE 4140 (min)	0,38	0,15	0,75	--	--	0,80	0,15	--	--	--	--	--	--	rest

SAE 4140 (máx)	0,43	0,35	1,00	0,03 5	0,04 0	1,10	0,25	--	--	--	--	--	--	rest
----------------------	------	------	------	-----------	-----------	------	------	----	----	----	----	----	----	------

Os dados abaixo são referentes ao ensaio de tração do aço SAE 4140:

Tabela 3.2 - Caracterização do material através de ensaio de tração

Limite de escoamento (Kgf/mm ²)	Resistência à tração (Kgf/mm ²)	Alongamento (%)	Estricção (%)	Dureza (HRC)
73,0	85,9	29	63	18 (média)

3.3 Métodos

3.3.1 Curvas de Polarização Potenciostática

Foram realizadas ensaios de polarização potenciostática a partir do potencial de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$ com uma velocidade de varredura de 20 mV/min , utilizando como eletrodo de trabalho ferro Armco, em meio de cultura bacteriológico Postgate C (estéril e também com o inóculo), numa célula eletroquímica convencional de três eletrodos. Como contra eletrodo foi utilizado um fio de platina e como eletrodo de referência o eletrodo de calomelano saturado.

3.3.2 Ensaios de Permeação Eletroquímica

Para os ensaios de eletropermeação foram confeccionados corpos de prova retangulares de aproximadamente $4,5 \text{ cm}^2$ de área e de espessura em torno de $0,7 \text{ mm}$, de ferro Armco recozido por uma hora a $800 \text{ }^\circ\text{C}$, lixados (1000 mesh) e desengraxados com álcool.

Os ensaios foram realizados na célula de dois corpos, em que em um lado se colocava a solução de estudo (lado catódico) e no outro lado NaOH 0,1 M (lado anódico). Nestes ensaios aplicava-se o potencial catódico constante num dos lados da célula de Devanathan-Stachurski (1962), (lado de geração de hidrogênio), ao mesmo tempo que do outro lado da célula (lado de detecção do hidrogênio) aplica-se um potencial ligeiramente anódico, de forma a oxidar todo o hidrogênio que chegava a superfície da amostra. O conjunto utilizado pode ser observado na Figura 3.1, e durante a realização dos ensaios permanecia dentro de uma capela fechada com utilização de uma lâmpada de luz ultra-violeta para diminuir a contaminação por bactérias aeróbicas.

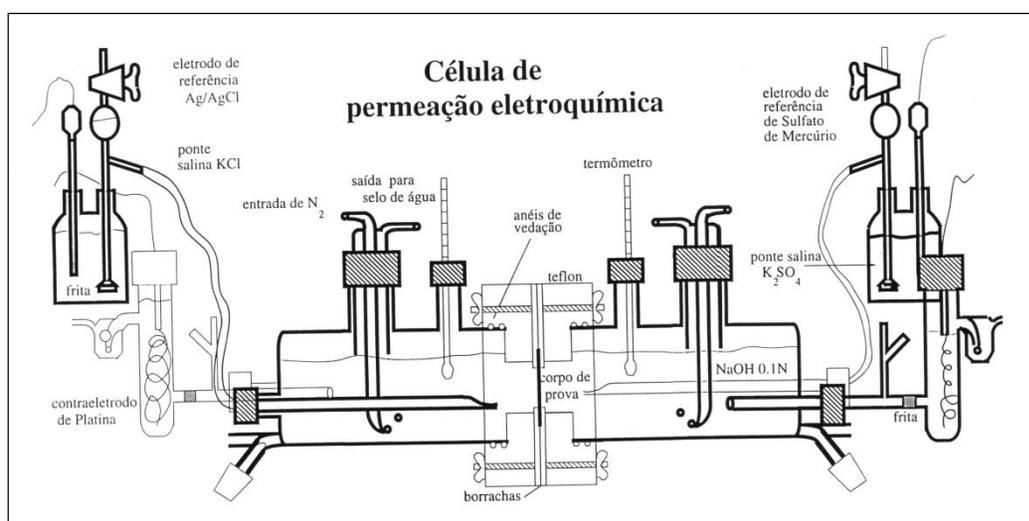


Figura 3.1 – Desenho da célula de permeação eletroquímica (Della Mea, 1994)

No compartimento catódico colocou-se a solução de estudo (primeiramente o meio bacteriológico estéril e após contaminado com microrganismos); o corpo de prova foi polarizado nos seguintes potenciais: -700 , -800 , -900 , -1000 , -1100 , -1200 , -1300 , -1400 e -1500 mV_(ENH). Também foram realizados ensaios ao potencial de corrosão do ferro (≈ -450 mV_(ENH)).

Do lado de extração de hidrogênio, aplicava-se $-250 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Sobre este lado da membrana foi previamente depositada uma camada de paládio entre 1,5 e 1,6 μm livre de porosidades para evitar a dissolução do ferro, segundo o método de Driver (1981). Primeiramente, a face da chapa a ser eletrodepositada recebeu lixamento mecânico até # 1000 para se obter uma superfície limpa e livre de óxidos. Após, realizava-se um desengraxe eletrolítico com solução de Extran a 5% aplicando-se uma densidade de corrente de 50 mA/cm^2 durante 2 minutos.

Para o depósito eletrolítico de paládio utilizou-se a solução com 10 g de $\text{Pd}(\text{NH}_3)_2(\text{NO}_2)_2$, pH 9,0. A corrente aplicada foi de 20 mA/cm^2 durante 30 segundos e depois 5 mA/cm^2 durante 18 minutos. Este filme não afeta a cinética de difusão do hidrogênio.

Como resultado tem-se uma corrente anódica que flui entre a amostra e o contra eletrodo. Esta corrente anódica é proporcional ao fluxo de hidrogênio que permeia o metal, segundo a lei de Faraday:

$$J_{(L)}(t) = \frac{i_L(t)}{nFA}$$

onde F é a constante de Faraday, n é o número de elétrons que participam da reação de redução de hidrogênio e A é a área da superfície da amostra exposta ao eletrólito.

Os ensaios foram realizados à temperatura de $24 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ com a seguinte seqüência experimental: após extração de todo o hidrogênio possivelmente contido na membrana (obtenção de correntes $\leq 0,1 \mu\text{A}/\text{cm}^2$), colocava-se o eletrólito (meio de cultura Postgate C esterilizado, com pH de $7,0 \pm 1$, aplicando-se ao ferro potenciais catódicos e esperando-se a obtenção de uma corrente de permeação, i_p , constante, (estado estacionário, $t = 24$ horas). Após este período, retirava-se o meio estéril e introduzia-se um outro meio de cultura com as BRS já crescidas durante 10 dias em estufa $28 \text{ }^\circ\text{C}$.

Na célula de eletropermeação com a introdução do meio contendo microrganismos obteve-se um transiente de corrente de permeação e, sabendo-se o coeficiente de difusão previamente medido para o material da membrana (Dick, 1987) calculou-se a

concentração de hidrogênio junto a superfície exposta ao meio agressivo, segundo a equação:

$$CH_{(móis / cm^3)} = \frac{l \cdot ip}{D \cdot F}$$

onde l é a espessura do corpo de prova, ip é a densidade de corrente, D é o coeficiente de difusão do hidrogênio no ferro ($6,6 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$) e F é a constante de Faraday.

O tempo de 10 dias de incubação para posterior utilização do meio contaminado foi determinado primeiramente por ensaios de observação, os resultados obtidos pelo NMP e também dados da literatura (Gaylarde, 1992). Na maioria dos ensaios realizados, após este período de tempo os microrganismos já haviam se desenvolvido, o que era observado pelo escurecimento do meio bacteriológico. Este tempo era muito maior do que o tempo necessário quando se utilizava o meio B, supondo-se que o pré-inóculo necessitava de um tempo maior para se desenvolver dado sua necessária adaptação ao meio C.

Toda a vidraria utilizada, tanto nos ensaios eletroquímicos como para a conservação dos microrganismos, foi esterilizada em autoclave a 121 °C durante 20 minutos.

Utilizou-se reagentes P.A para o preparo das soluções.

Para aplicação dos potenciais utilizou-se eletrodos de calomelano saturado (ECS), eletrodos de Ag/AgCl, e Cu/CuSO₄ e estão todos referidos no texto ao eletrodo normal de hidrogênio (ENH).

3.3.3 Acompanhamento da Corrente Desenvolvida nos Sistemas em Função de Potencial Catódico Aplicado

Foram realizados ensaios com aplicação dos potenciais catódicos de -750 e -1000 mV_(ENH), acompanhando-se as correntes desenvolvidas em função do tempo. Utilizou-se corpos de prova de ferro Armco e aço SAE 4140, os quais receberam o seguinte acabamento superficial: lixados até # 600, lavados com acetona, álcool e posteriormente secos em ar

quente. Também foram esterilizados com luz ultra violeta dentro da câmara de esterilização por 2 horas de cada lado antes de iniciar o ensaio. Para a realização dos ensaios foram utilizados os seguintes meios:

- Ensaio abiótico com o meio Postgate C, esterilizado em autoclave durante 20 minutos à temperatura de 121 °C; (Os meios esterilizados só eram utilizados após um período de 48 horas, neste tempo se observava a presença de contaminação).
- Ensaio biótico: adicionado 10 mL de pré-inóculo ao meio Postgate C em duas situações, quais sejam, logo antes de realizar o ensaio, ou então usou-se o meio bacteriológico com o consórcio microbiano já desenvolvido mantido em estufa por 10 dias.

3.3.4 Análises de Microscopia Eletrônica de Varredura

Para observação de amostras metálicas expostas ao meio contaminado com microrganismos ao microscópio eletrônico de varredura, foi realizado o seguinte tratamento: primeiramente os corpos de prova ficaram imersos em glutaraldeído 3% pelo período de 14 horas e em seguida foi realizado o processo de desidratação. Neste processo os corpos de prova permaneceram imersos durante 20 minutos em cada uma das seguintes soluções:

Tabela 3.3 – Soluções utilizadas para a desidratação do biofilme formado sobre as amostras metálicas.

Solução 1	50% etanol e 50% água
Solução 2	70% etanol e 30% água
Solução 3	80% etanol e 20% água
Solução 4	95% etanol e 5% água
Solução 5	100 % acetona

Em seguida, os corpos de prova eram seco em ar quente e metalizados para posterior observação.

Tanto as amostras que foram analisadas provenientes dos ensaios com aplicação de potencial como as dos ensaios de permeação sofreram o mesmo tratamento descrito acima.

Os corpos de prova usados nos ensaios de tração (BTD) foram analisadas em microscópio eletrônico e lupa sem sofrerem o processo de desidratação.

3.3.5 Ensaios de Tração Baixa Taxa de Deformação (BTD)

Para se proceder ao estiramento do corpo de prova com uma velocidade de tração constante utilizou-se uma máquina de tração. Uma descrição completa desta técnica encontra-se na literatura Heck (1981) e Schroeder (1982). O corpo de prova de tração permaneceu dentro de uma célula de vidro especial com paredes de 3 mm de espessura.

Os corpos de prova de aço 4140 utilizados nos ensaios de tração estão de acordo com a Norma ABNT 304, e após usinados sofreram um tratamento com lixas de # 100 até # 1000. A Figura 3.2 mostra as dimensões dos corpos de prova de tração.

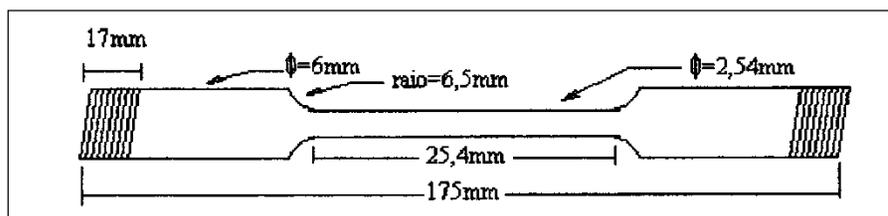


Figura 3.2 – Corpo de prova utilizado em ensaio de tração baixa taxa de deformação

Foram realizados ensaios de baixa taxa de deformação nos seguintes meios:

a) Sem aplicação de potencial catódico:

- ao ar
- óleo mineral neutro
- meio PGC estéril

- meio PGC mais 10 mL do inóculo com BRS, tempo de crescimento do consórcio de 10 dias, o ensaio foi realizado após a injeção do pré-inóculo.
- meios PGC mais 10 mL do pré-inóculo meio PGB com o corpo de prova imerso durante 3 dias.
- PGC + 10 mL de PGB estéril

b) com aplicação de potencial catódico:

Os ensaios com aplicação de potenciais catódicos de -750 e -1000 mV_(ENH) foram realizados em meio PGC com bactérias pré-crescidas por 10 dias em estufa. (T = 28 °C).

Os microrganismos desenvolveram-se da mesma forma que para os ensaios de permeação. Análises microbiológicas periódicas de viabilidade e o número mais provável foram realizados.

3.4 Equipamentos Utilizados

Foram utilizados os seguintes equipamentos e acessórios:

- Potenciostato Wenking ST 72
- Potenciostato / Galvanostato EG & G Modelo 173
- Potenciostato Bank MP 81
- Registradores x – t ECB, modelo 101
- Eletrodos de referência marca Analion
- Medidor de pH marca Digimed
- Balança analítica Micromac
- Milivoltmetro de alta impedância (fabricação própria)
- Estufa Biomatic
- Câmara de Fluxo Laminar Trox do Brasil LTDA
- Agitador Fisatron
- Autoclave Phoenix
- Máquina de tração
- Microscópio eletrônico Philips XT

4. RESULTADOS

4.1 Inóculo Utilizado nos Ensaio

A análise do inóculo utilizado neste trabalho foi realizado pela Fachhochschule (Escola Técnica Superior) de Konstanz na Alemanha e apresentou os seguintes resultados quanto a identificação dos microrganismos e análises microscópicas:

4.1.1 Microrganismos Identificados

- a) Bactéria redutora de sulfato: $4,6 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ (pelo método origem de energia H_2 e HCOO^-)
- b) Bactéria redutora de sulfato: $7,5 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ (pelo método origem de energia carbono e l-lactato)
- c) Microrganismos heterotróficos aeróbicos: $7,5 \times 10^6$ (peptona e extrato de levedura)
- d) Bactérias oxidantes do manganês: $3,6 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$
- e) *Pseudomonas* sp: $4,1 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$

4.1.2 Análise ao Microscópio

Predomínio de *Desulfovibrio vulgaris* com células móveis e um pequeno número com aspecto de *Acetobacterium woodi*.

4.1.3 Meios Bacteriológicos Biologicamente Ativos

O controle do desenvolvimento microbiano foi observado pelo escurecimento do meio devido à produção de sulfeto de ferro como consequência da reação entre o ferro existente no meio bacteriológico e o bissulfeto HS^- produzido pela atividade metabólica dos microrganismos.

O aspecto do meio bacteriológico utilizado nos ensaios, antes e após desenvolvimento do consórcio microbiano, pode ser observado na Figura 4.1

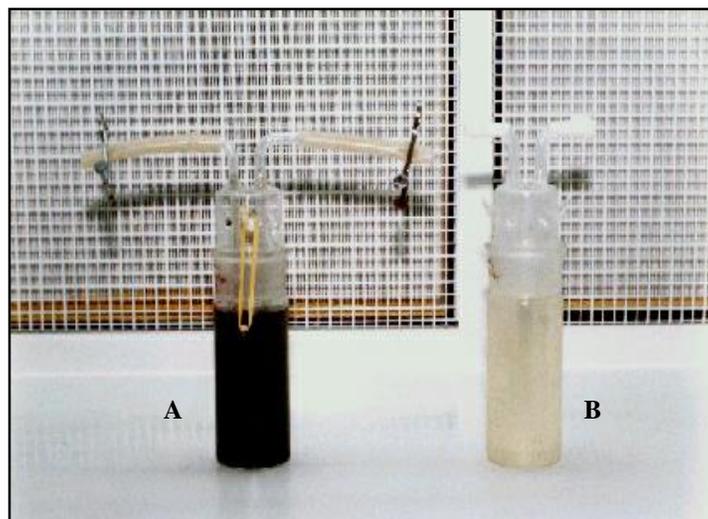


Figura 4.1 – Frasco A: meio Postgate C inoculado com 10 mL do pré-inóculo, após 10 dias de incubação em estufa a $\pm 28^{\circ}\text{C}$, mostrando a reação positiva do desenvolvimento do inóculo pelo escurecimento homogêneo do meio bacteriológico devido à formação de sulfeto de ferro.

Frasco B: meio Postgate C estéril.

Para a preparação do meio biologicamente ativo com BRS, primeiramente utilizou-se o meio PGB. O precipitado de cor negra FeS que é o indicador do desenvolvimento do

inóculo, normalmente era observado 3 dias após a inoculação. No entanto, quando iniciaram-se os ensaios utilizando o meio PGC notou-se que o escurecimento do meio não ocorria no mesmo período do primeiro meio bacteriológico utilizado. Optou-se pela utilização do meio PGC devido à ausência do precipitado característico do meio PGB (fonte insolúvel/CaSO₄) e que poderia acarretar, quando da inoculação da cultura nos ensaios potencioestáticos de longo tempo, a formação de micro-sítios de depósitos na superfície da amostra metálica que estivesse em contato com o precipitado, acelerando o processo corrosivo.

Para a utilização do PGC, primeiramente foi necessário estabelecer quanto tempo após a inoculação, este poderia ser utilizado com a garantia de que os microrganismos haviam se desenvolvido e que, portanto haveria H₂S formado metabolicamente.

Ensaio preliminares foram realizados com meio PGC, e como indicador do desenvolvimento dos microrganismos observou-se o escurecimento do meio. A maioria dos frascos inoculados apresentou esta característica após o 7º e até o 10º dia de incubação do inóculo. A realização dos ensaios de NMP comprovaram que ocorria o desenvolvimento em 3 diluições testadas, também neste período. Com base nestes resultados, para a realização dos ensaios bióticos fixou-se, então, a utilização do meio PGC após 10 dias da inoculação. Este tempo mais longo para observação da modificação do meio é devido à adaptação que os microrganismos precisam sofrer, após a mudança de meios bacteriológicos, principalmente quanto à diferença de composição química entre eles.

Na Tabela 4.1 estão mostradas as concentrações dos principais íons nos meios bacteriológicos PGC e PGB utilizados nos ensaios, para comparação.

Tabela 4.1 – Concentrações de alguns íons presentes nos meios Postgate B e C

	Postgate B (ppm)	Postgate C (ppm)
Fe ²⁺	1000	0,80
SO ₄ ²⁻	162	3064
Cl ⁻	695	682

4.2 – Ensaio para Contagem das BRS pelo Método do Número Mais Provável (NMP)

Na Figura 4.2 está mostrado um ensaio para contagem das células de BRS pelo método estatístico do NMP.



Figura 4.2 – Fotografia do ensaio para determinação do NMP em meio bacteriológico Postgate B. Volume total dos frascos de 10 mL, temperatura de incubação de $\pm 28^{\circ}\text{C}$.

A Figura 4.2 representa o ensaio para determinar o NMP do pré-inóculo utilizado nos ensaios, que foi determinado a partir do inóculo original. Neste caso, em cada frasco foi adicionado, respectivamente, 1, 0,1 e 0,01 da solução original em 9 mL de meio PGB e a partir daí foram feitas as diluições até 10^{-5} . Todos os frascos foram inoculados no mesmo dia e guardados em estufa à temperatura de incubação de $28^{\circ}\text{C} \pm 2$.

4.2.1 Resultados da Determinação do NMP

A Tabela 4.2 mostra o resultado do ensaio para determinação do NMP de BRS em meio Postgate B. Para a realização deste ensaio partiu-se de uma solução matriz, onde 10 mL do pré-inóculo ($t = 5$ dias) foram diluídos em 90 mL do meio bacteriológico.

Tabela 4.2 - Resultado do NMP do meio bacteriológico PGB após 3 e 10 dias da inoculação nas diluições de 10^{-1} a 10^{-9} com 3 repetições de 1; 0,1 e 0,01 mL

Tempo (dias)	Diluições	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹
		3	1mL	3 +	3 +	3 +	3 +	3 +	3 +	0
	0,1mL	3 +	3 +	3 +	3 +	3 +	0	0	0	0
	0,01mL	3 +	3 +	3 +	3 +	1 +	0	0	0	0
10	1 mL	3 +	3 +	3 +	3 +	3 +	3 +	3 +	1 +	0
	0,1 mL	3 +	3 +	3 +	3 +	3 +	0	0	0	0
	0,01 mL	3 +	3 +	3 +	3 +	3 +	0	0	0	0

A partir destes resultados, pôde-se determinar o NMP após 3 dias como sendo igual a $2,312 \times 10^6$ cél/mL.

A curva de crescimento de um ciclo normal pode ser caracterizada resumidamente em quatro etapas: fase lag é o período em que o número de células não aumenta; fase de crescimento que usualmente é caracterizada pelo aumento exponencial de células; fase estacionária que não apresenta um aumento de números de células e a fase de morte que é caracterizada pelo decréscimo exponencial do número de células viáveis (Gerhardt et al., 1981). No 10º dia o inóculo utilizado neste estudo já está na “fase de morte” (Figura 4.3), porém o meio bacteriológico apresentava a formação de FeS e produção de H₂S importantes para a realização dos ensaios.

Na Figura 4.3 está mostrado o resultado do NMP em meio Postgate C. Utilizou-se o mesmo volume de meio a ser usado nos ensaios eletroquímicos, ou seja, 300 mL de meio PGC e 10 mL de meio PGB, chamado de pré-inóculo. Pode-se observar que nos primeiros 3 dias do ensaio não ocorreu o desenvolvimento de microrganismos. A observação visual do ponto de viragem, isto é, escurecimento do meio ocorreu no 9º dia do ensaio.

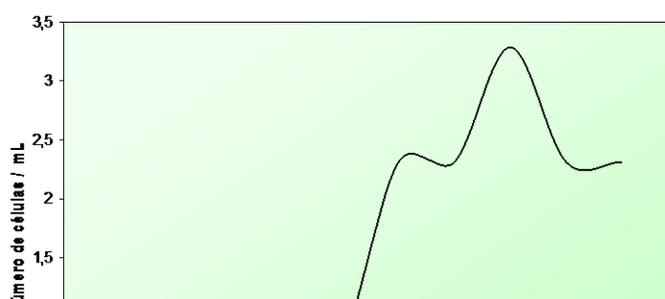


Figura 4.3 – Curva de crescimento do inóculo contendo BRS. Volume de 300 mL do meio PGC mais 10 mL do pré-inóculo em PGB. Acompanhamento do crescimento durante 10 dias, observação diária.

4.3 Avaliação do Desenvolvimento do Pré-Inóculo com Variação do pH

Foram realizados ensaios para avaliação do desenvolvimento do inóculo utilizado nos ensaios em função do pH do meio. Os resultados , após 6 dias de inoculação, estão nas Figuras 4.4 a 4.8.



Figura 4.4 – Fotografia dos frascos para avaliação do desenvolvimento do inóculo em meio PGB, pH 9,0.

Figura 4.5 – Fotografia dos frascos para avaliação do desenvolvimento do inóculo em meio PGB, pH 10,0.



Figura 4.6 – Fotografia dos frascos para avaliação do desenvolvimento do inóculo em meio PGB, pH 11, 03.

Figura 4.7 – Fotografia dos frascos para avaliação do inóculo em meio PGB, pH 12,40.

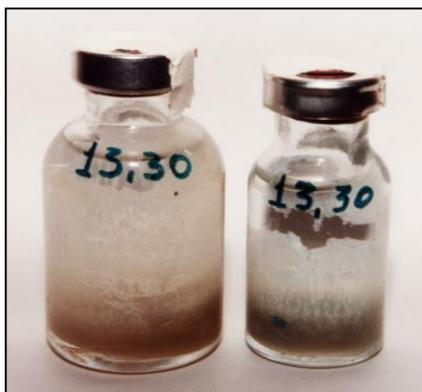


Figura 4.8 – Fotografia dos frascos para avaliação do desenvolvimento do inóculo em meio PGB, pH 13,30.

Observa-se que quanto mais alcalino o pH, o meio se torna menos turvo e o escurecimento ocorre preferencialmente sobre o precipitado do meio PGB.

Após a obtenção destes resultados foram retiradas amostras de 1 mL de todos os ensaios (mesmo daqueles que não apresentavam o precipitado escuro que indica o desenvolvimento de microrganismos) e estes novamente inoculados em meio PGB, para observar a viabilidade das células. Os dados estão sumarizados na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 – Resultado do desenvolvimento do inóculo com alteração do pH em função do tempo de incubação

Valor de pH	Após 6 dias de incubação	Após 8 dias de incubação
9,0	Positivo	Positivo
10,0	Positivo	Positivo
11,03	Positivo	Positivo
12,40	Negativo	Positivo
13,00	Negativo	Negativo

Com a modificação do pH do meio observou-se que quanto mais alcalino, maior é o tempo para o desenvolvimento dos microrganismos, que pode, no entanto, ser comprovado até o pH 12,40.

4.4 Análise da Concentração de SO_4^{2-} em Meio PGC Estéril e após Desenvolvimento do Inóculo

A Tabela 4.3 mostra a concentração de SO_4^{2-} , determinado por turbidimetria, do meio PGC estéril e do meio inoculado com um tempo de crescimento de 24 dias. Os valores mostram que ocorre uma diminuição da concentração de SO_4^{2-} com o desenvolvimento dos microrganismos, como seria de esperar.

Tabela 4.4 – Análise da concentração de SO_4^{2-} no meio bacteriológico PGC estéril e inoculado com o consórcio bacteriano (t = 24 dias)

Meio	SO_4^{2-} (mg/L)
Amostra do meio PGC estéril	1336

Amostra do meio PGC inoculado (t = 24 dias)	421
---	-----

A Figura 4.12 mostra o resultado de um ensaio em que foi inoculado 1 mL de pré-inóculo em 9 mL de meio PGB, com 20 repetições. Estes frascos foram separados em dois grupos denominados de 1ª amostra e 2ª amostra. A cada dia um frasco era analisado pelo método turbidimétrico quanto à concentração de SO_4^{2-} . Também aí se comprovou o decréscimo da concentração de SO_4^{2-} com o tempo.

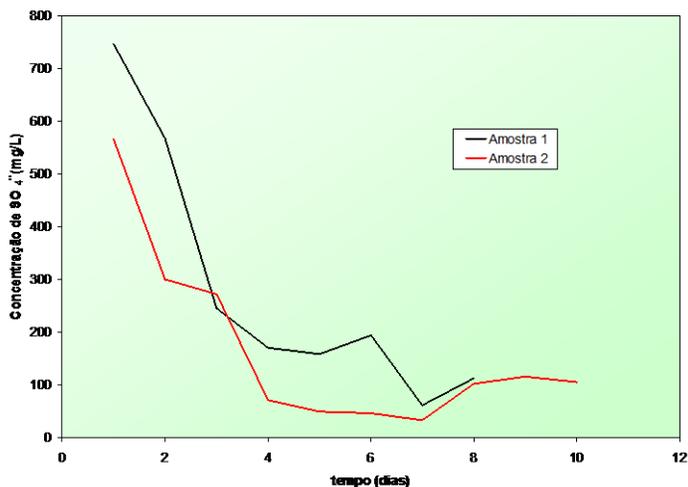


Figura 4.9 – Resultados da análise da concentração do SO_4^{2-} em função do tempo de incubação do inóculo utilizado neste estudo, análise realizada pelo método de turbidimetria.

4.5 Ensaio para Avaliação da Aderência de Microrganismos sem Aplicação de Potencial Catódico – Avaliação por Microscopia Eletrônica de Varredura

Nas Figuras 4.10 a 4.14 estão mostradas as fotografias de microscopia eletrônica de amostras de ferro. Este ensaio foi realizado para observar a formação do biofilme em relação ao tempo de exposição das amostras metálicas em meio PGC com bactérias pré-crescidas por 10 dias. Para a realização destas micrografias os corpos de prova, após o ensaio, foram submetidos ao processo de desidratação descrito no ítem 3.3.4.

A Figura 4.10 mostra o ensaio realizado com 30 minutos de exposição da amostra metálica de ferro no meio contaminado por BRS e não se observa células microbianas aderidas, apenas óxido de ferro. Na Figura 4.11, após 2 horas de ensaio, pode-se observar células bacterianas sobre a superfície metálica. A Figura 4.12 mostra a superfície do ferro depois de 4 horas de ensaio e pode-se observar um aumento significativo e possivelmente a aderência de células sobre o metal. A Figura 4.13 mostra a superfície metálica após 6 horas de exposição no meio contaminado e pode-se observar bactérias aderidas, bem como uma grande quantidade de óxido. A Figura 4.14 mostra um provável sulfeto de ferro formado sobre a superfície do ferro, após 4 horas de imersão da amostra metálica no meio contaminado.

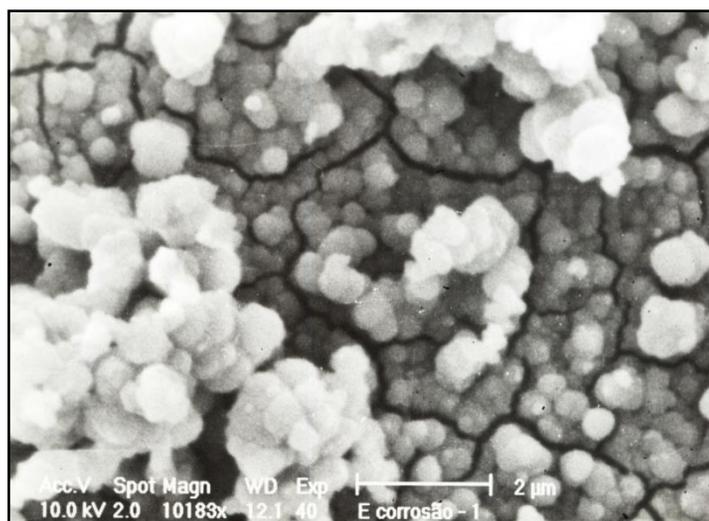


Figura 4.10 – Micrografia da superfície do ferro Armco após 30 min de exposição ao meio bacteriológico com bactérias.

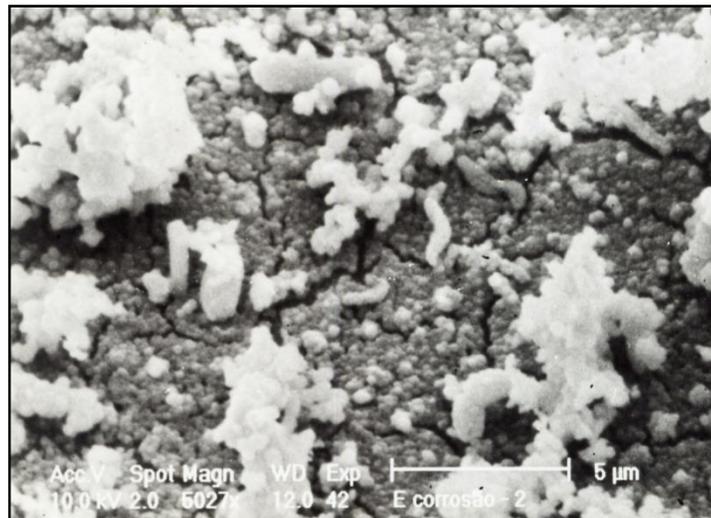


Figura 4.11 – Micrografia da superfície do ferro Armco após 2 h de exposição ao meio bacteriológico com bactérias.

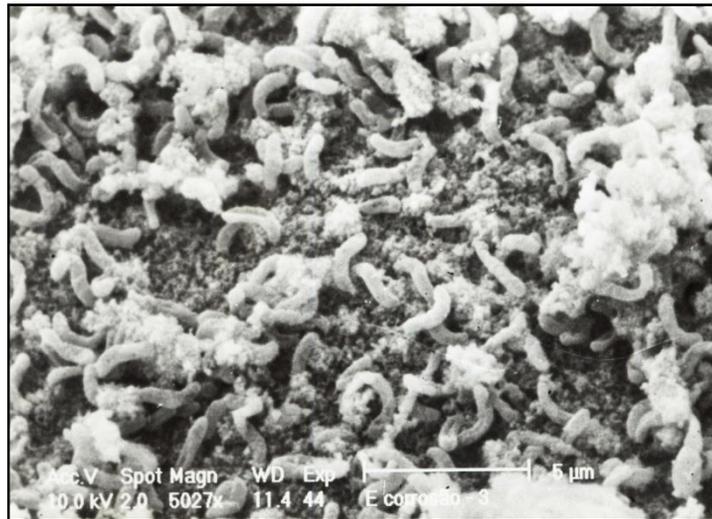


Figura 4.12 – Micrografia da superfície do ferro Armco após 4 h de exposição ao meio bacteriológico com bactérias.



Figura 4.13 – Micrografia da superfície do ferro Armco após 6 h de exposição ao meio bacteriológico com bactérias.

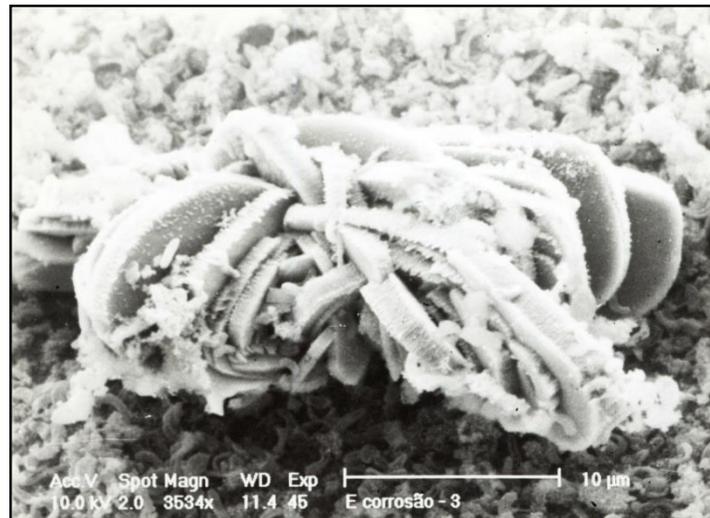


Figura 4.14 – Micrografia mostrando uma provável estrutura de sulfeto de ferro formado sobre a superfície do ferro Armco corroído, 4 h de exposição ao meio bacteriológico.

4.6 Curvas de Polarização Potenciostática

Primeiramente são mostrados os ensaios em que foi utilizado o meio bacteriológico Postgate C estéril, isto é, sem o inóculo em estudo. Como poderia haver contaminações por bactérias aeróbicas durante a realização do ensaio, após o término do experimento foram

retiradas amostras do meio líquido e realizado plaqueamento em agar nutritivo. Não foram observadas contaminações, após 48 horas, das placas de Petri em estufa.

Na Figura 4.15 observa-se o comportamento eletroquímico de uma amostra de platina no meio Postgate C.

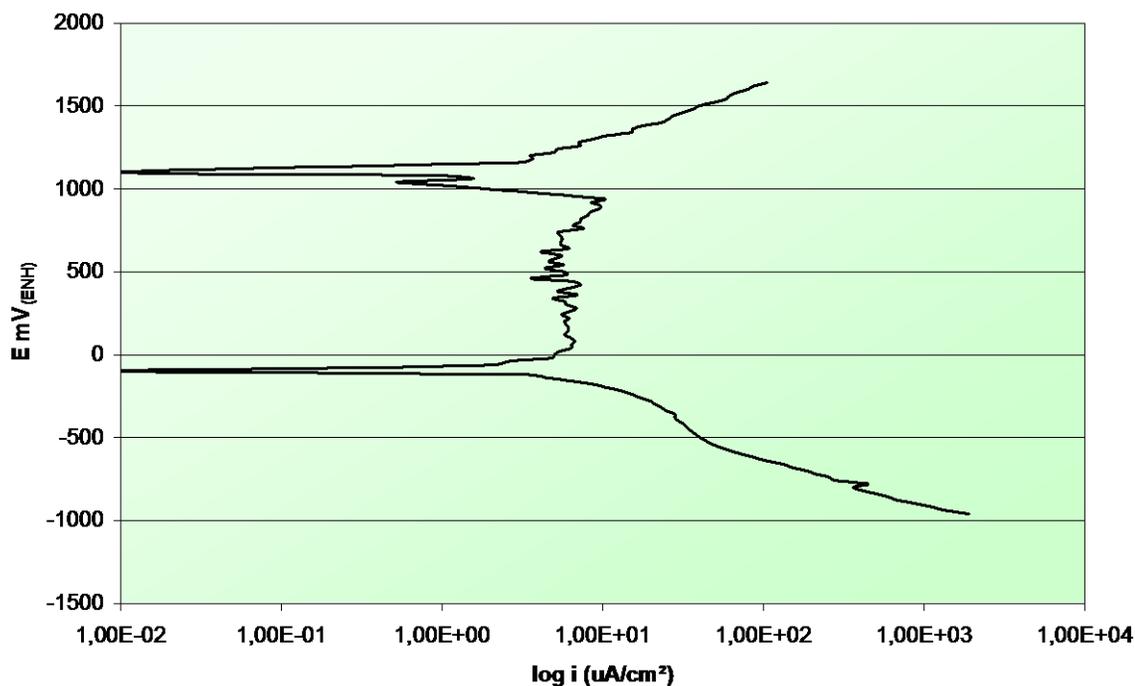


Figura 4.15 – Curva de polarização potencioestática para a platina em meio bacteriológico Postgate C estéril e arejado.

62

pH 8

$E_{\text{corr}} = +451,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

$E_{\text{inicial}} = -958,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

Na Figura 4.16 o ensaio foi realizado com o meio bacteriológico anteriormente citado para amostra de ferro Armco. Para este material metálico não se observa zona de passivação, embora haja uma pequena tendência à formação de um pico e nota-se a dissolução anódica do metal.

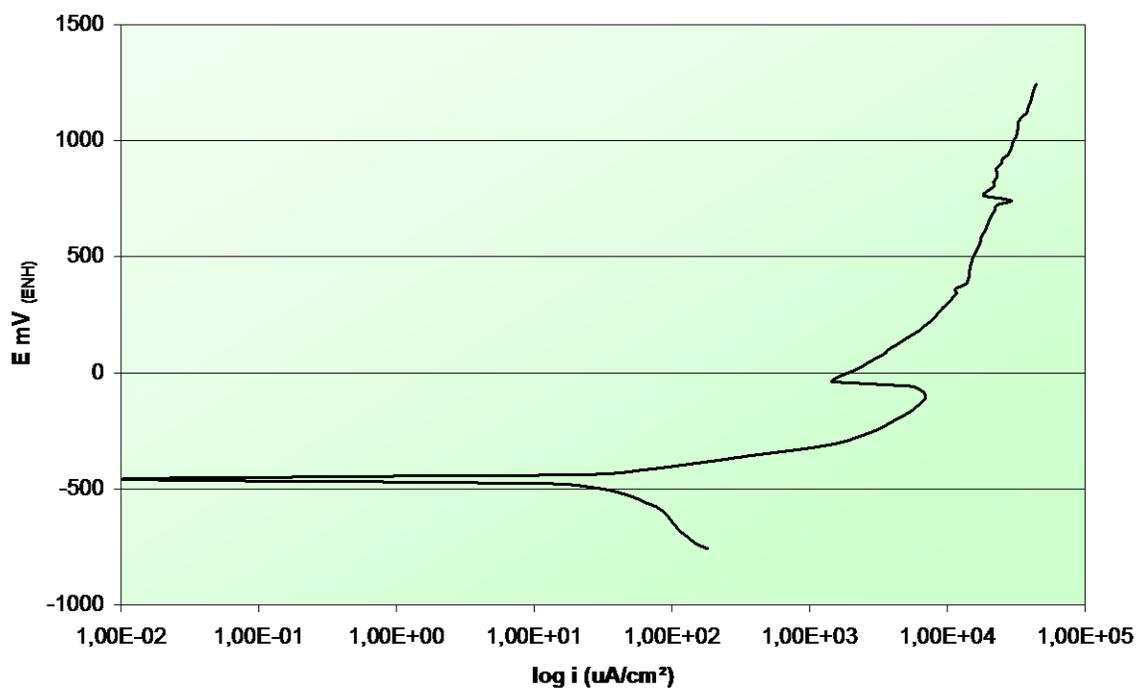


Figura 4.16 – Curva de Polarização potencioestática para o ferro Armco em meio bacteriológico Postgate C estéril e desarejado.

pH 7

$E_{corr} = +84,5 \text{ mV}_{(ENH)}$

$E_{inicial} = -758,5 \text{ mV}_{(ENH)}$

$E_{final} = +1241,5 \text{ mV}_{(ENH)}$

As Figuras 4.17 e 4.18 apresentam o resultado da polarização do corpo de prova de ferro, o qual foi submetido à redução durante 30 minutos no potencial de $-758,5 \text{ mV}_{(ENH)}$ antes de iniciar a varredura. Nestes ensaios foi realizado o desarejamento com N_2 por 30 minutos antes da realização do ensaio. Nota-se que as correntes anódicas e catódicas alcançaram valores superiores no meio sem desarejamento.

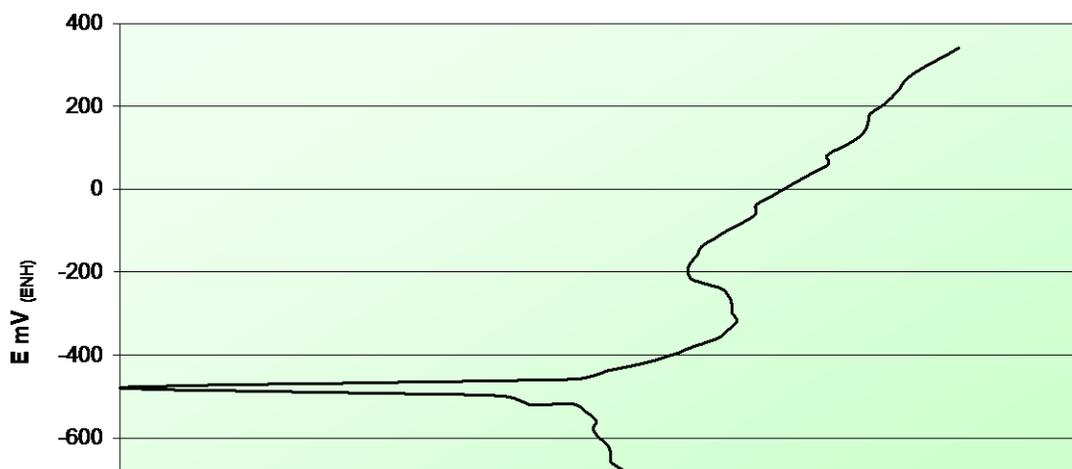


Figura 4.17 – Curva de polarização potencioestática para o ferro Armco em meio Postgate C estéril.

Redução do filme de óxido: $-758,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$ (30 minutos antes de iniciar o ensaio).

Meio desarejado: 30 minutos antes de iniciar o ensaio.

pH 7,3

E inicial = $-758,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

E final = $+341,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

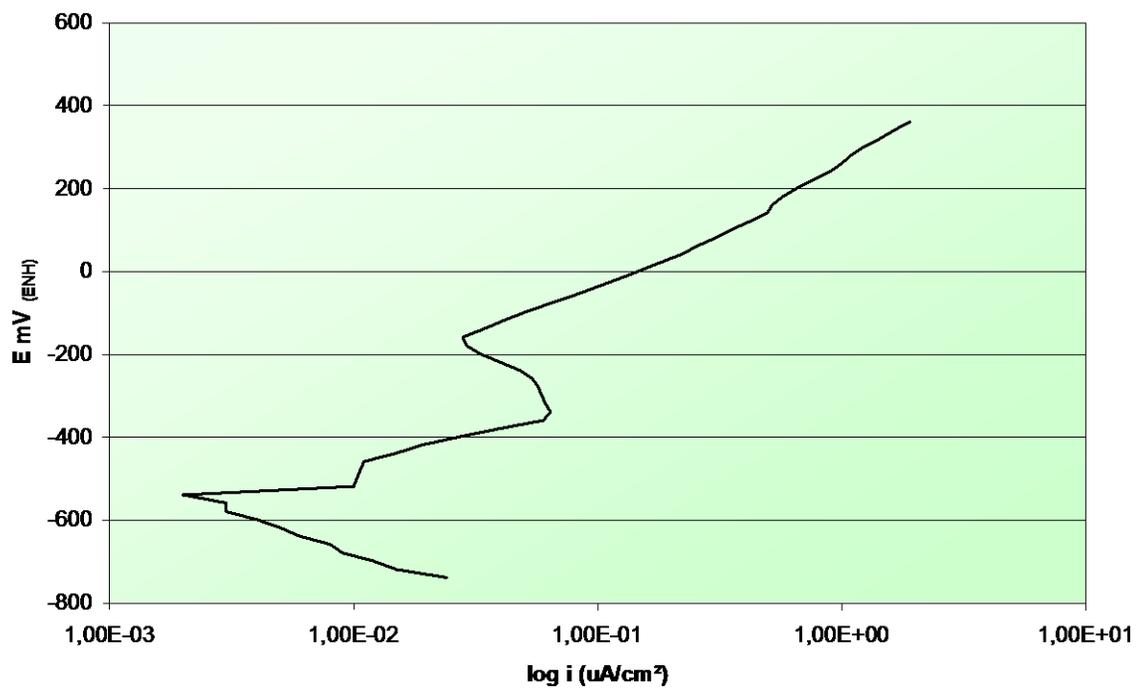


Figura 4.18 – Curva de polarização potencioestática para o ferro Armco em meio bacteriológico Postgate C estéril. Meio desarejado (30 minutos antes de iniciar o ensaio). pH 7,1
E inicial = $-758,5 \text{ mV}_{(ENH)}$
E final = $+361,5 \text{ mV}_{(ENH)}$

As Figuras 4.19 e 4.20 representam os ensaios de polarização potencioestáticas em meio com Postgate C com bactérias pré-crescidas por 10 dias. A curva representada pela Figura 4.18 foi realizada a partir do potencial de $-758,5 \text{ mV}_{(ENH)}$, e as Figuras 4.19 e 4.20 foram realizadas a partir de potencial de corrosão, primeiramente foi realizada a curva catódica e em seguida a curva anódica sobre a mesma amostra metálica.

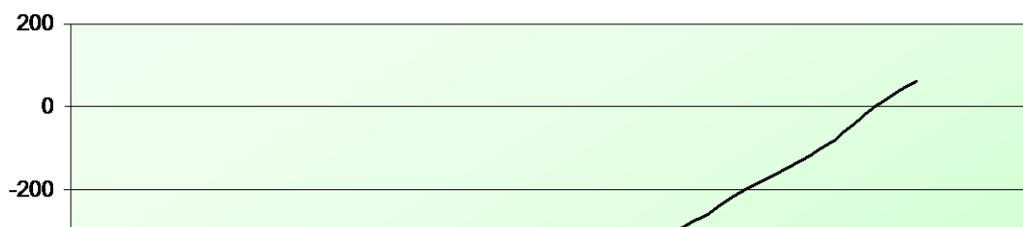


Figura 4.19 – Curva de polarização potencioestática para o ferro Armco em meio bacteriológico Postgate C com bactérias pré crescidas por 10 dias.

Meio desarejado (15 minutos antes de iniciar o ensaio).

$E_{corr} = -488,5 \text{ mV}_{(ECH)}$

$E_{inicial} = -958,5 \text{ mV}_{(ENH)}$

$E_{final} = +61,5 \text{ mV}_{(ENH)}$

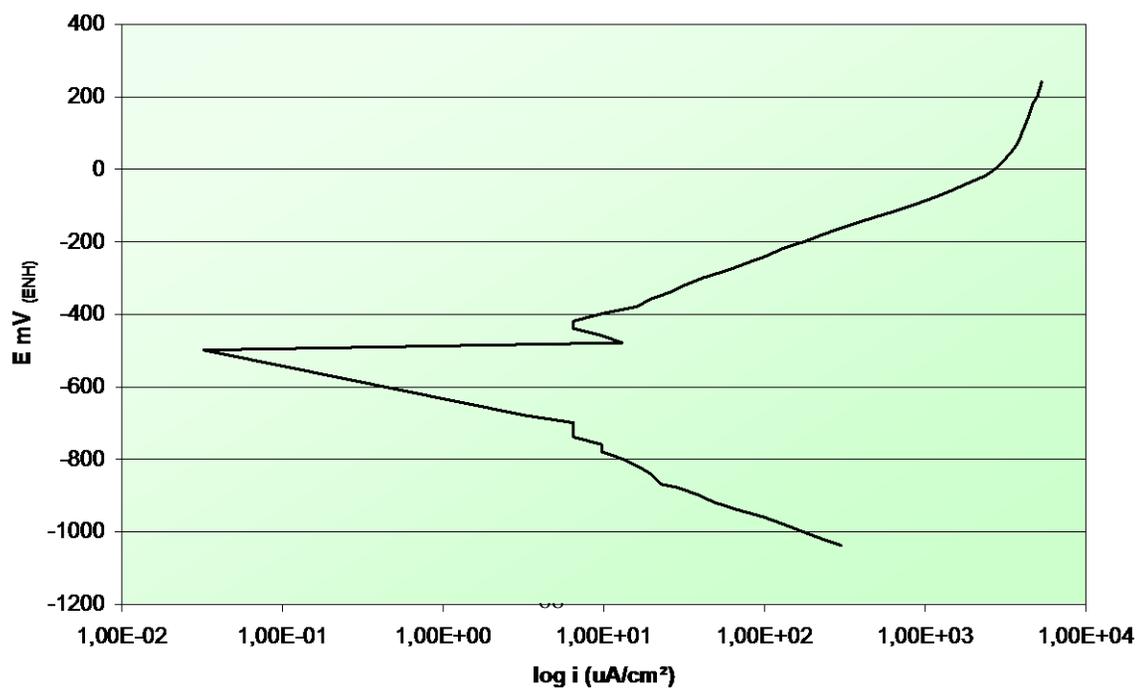


Figura 4.20 - Curva de polarização potencioestática para o ferro Armco anódica e catódica, a partir do potencial de corrosão em meio com bactérias pré-crescidas por 10 dias.

$E_{\text{corr}} = -475,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

$E_{\text{inicial}} = -1038,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

$E_{\text{final}} = +241,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

4.7 Ensaios Cronoamperométricos

Ensaios cronoamperométricos foram realizados com amostras de ferro Armco e do aço SAE 4140 com aplicação dos potenciais catódicos de -750 e $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$, utilizando-se o meio bacteriológico Postgate C abiótico (sem microrganismos), bem como inoculado com o consórcio microbiano. Pretendia-se com a realização destes experimentos criar condições similares aos testes de permeação para observar a formação do biofilme e o filme de FeS pela microscopia eletrônica de varredura e determinar a corrente desenvolvida nestes sistemas, para verificar a possível influência do H_2S produzido pelas bactérias nas correntes catódicas.

4.7.1 Ensaios com Aplicação do Potencial Catódico de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$ em Amostras de Ferro Armco

Na Fig. 4.21 pode-se observar o resultado de um ensaio realizado em meio bacteriológico estéril (sem microrganismos presentes) e observa-se que o valor da corrente decresce rapidamente nos primeiros minutos do teste, mantendo-se depois em valores baixos, em torno de $10 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ao final de 40 horas de realização do ensaio. Nas Figuras 4.22 e 4.23 estão mostrados os ensaios potencioestáticos realizados com o meio com bactérias pré-crescidas após 10 dias de desenvolvimento do consórcio em estufa. Também observa-se

a diminuição da corrente nos primeiros minutos do ensaio, porém menos acentuada do que no ensaio abiótico. Após cerca de 20 horas de realização do ensaio, no entanto, observam-se oscilações dos valores de corrente. Os valores finais de corrente foram em torno de $25 \mu\text{A}/\text{cm}^2$.

Nas fotos de microscopia eletrônica de varredura realizadas após a retirada dos corpos de prova do ensaio biótico (Figura 4.24 e 4.25 ou em macrografia como na Figura 4.26) observa-se que, com o potencial de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$, a superfície metálica apresenta-se parcialmente recoberta pelo biofilme, onde pode-se observar além das bactérias, uma grande formação de óxidos de ferro.

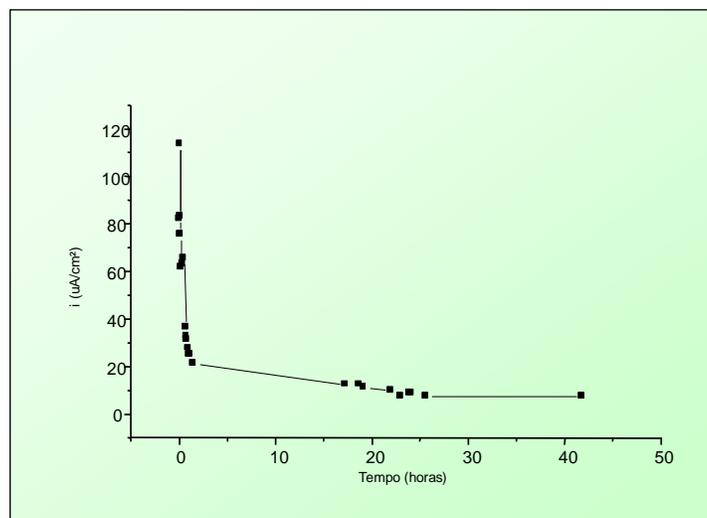


Figura 4.21 – Corrente obtida com aplicação do potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Eletrodo de ferro Armco em meio bacteriológico abiótico Postgate C.

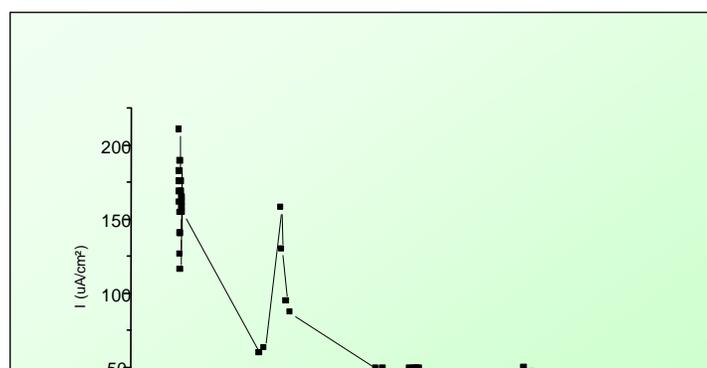


Figura 4.22 – Corrente obtida com aplicação de potencial catódico de $-750\text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Eletrodo de ferro Armco em meio bacteriológico Postgate C com o inóculo de estudo (tempo de crescimento = 10 dias)

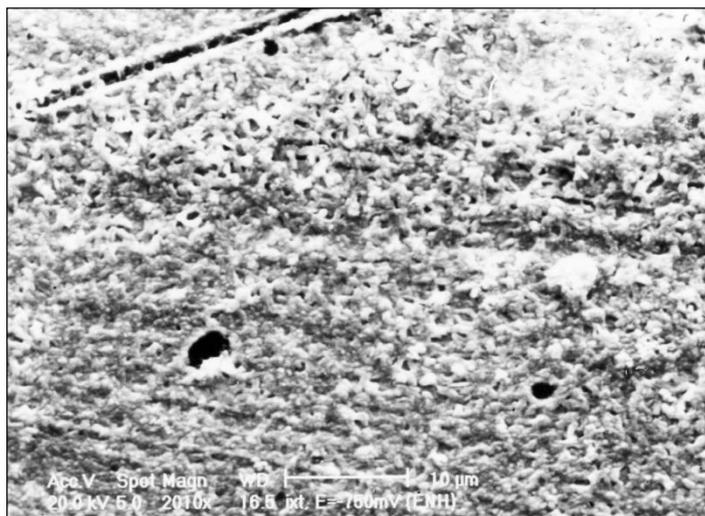
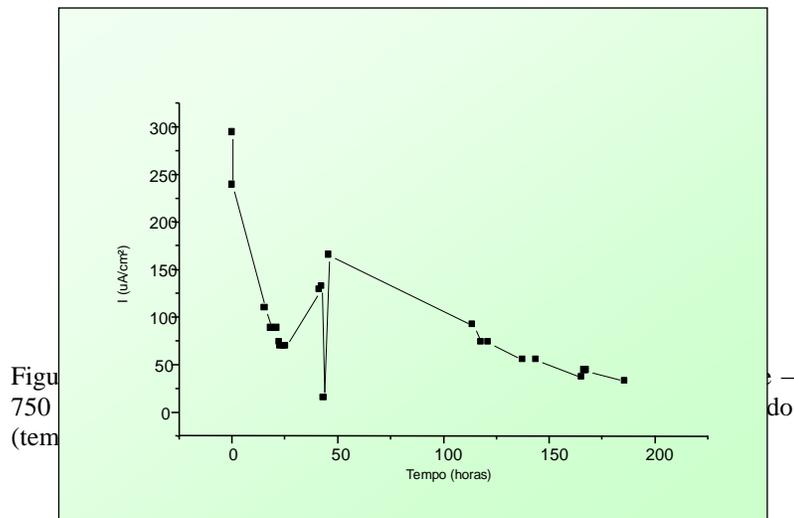


Figura 4.24 – Micrografia da superfície do ferro Armco após realização do ensaio cronoamperométrico biótico com potencial aplicado de $-750\text{ mV}_{(\text{ENH})}$ (tempo de crescimento = 10 dias)

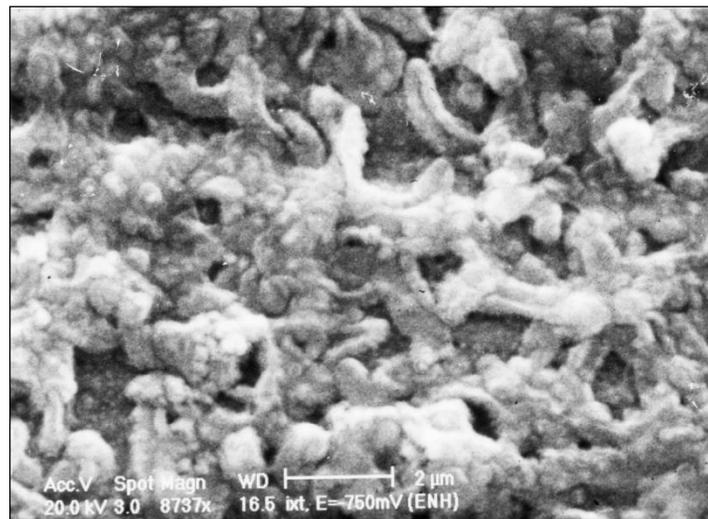


Figura 4.25 – Micrografia da superfície do ferro Armco após ensaio cronoamperométrico biótico com potencial catódico aplicado de $-750\text{ mV}_{(\text{ENH})}$ (tempo de crescimento = 10 dias).

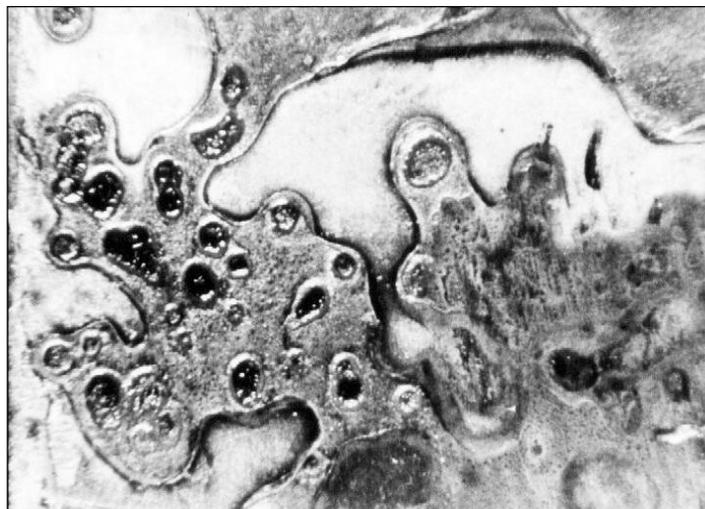


Figura 4.26 – Micrografia da superfície do ferro Armco após realização do ensaio cronoamperométrico biótico com aplicação de potencial $-750\text{ mV}_{(\text{ENH})}$ (tempo de crescimento = 10 dias).

Foram realizados ensaios potencioestáticos em que nas primeiras 24 horas o acompanhamento da corrente ocorreu em meio estéril, e somente após este tempo é que o meio foi inoculado, isto é, o pré inóculo foi colocado diretamente na célula de estudo. Como mostrado na Figura 4.27 inicialmente o comportamento da corrente foi semelhante aos ensaios já mostrados em meio estéril, porém após a inoculação observa-se uma oscilação nos valores de corrente. No entanto, não se observa picos de corrente pronunciados como os observados nos ensaios com as bactérias pré-crescidas por 10 dias. No final deste ensaio, observou-se que houve o desenvolvimento dos microrganismos durante a polarização, e formação do filme de sulfeto de ferro sobre a superfície.

Os ensaios referentes às Figuras 4.28 e 4.29 foram realizados em condição semelhante a citada anteriormente, porém o pré-inóculo foi colocado no meio bacteriológico estéril e, em seguida, iniciou-se o ensaio potencioestático. Nestes ensaios foram utilizados pré-inóculo com diferentes tempos de inoculação (7 e 14 dias) e observou-se um comportamento eletroquímico semelhante.

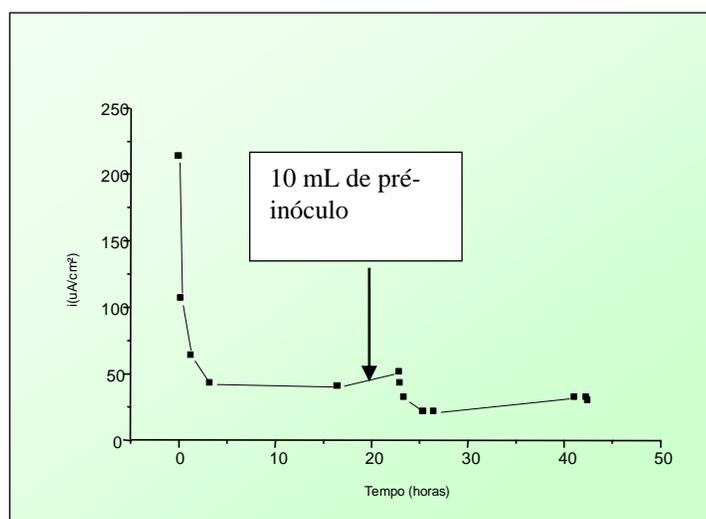


Figura 4.27 – Corrente obtida com aplicação do potencial catódico de $-750\text{ mV}_{(\text{ENH})}$ com eletrodo de ferro. A inoculação foi realizada após 24 h após o início do ensaio (pré-inóculo de 5 dias).

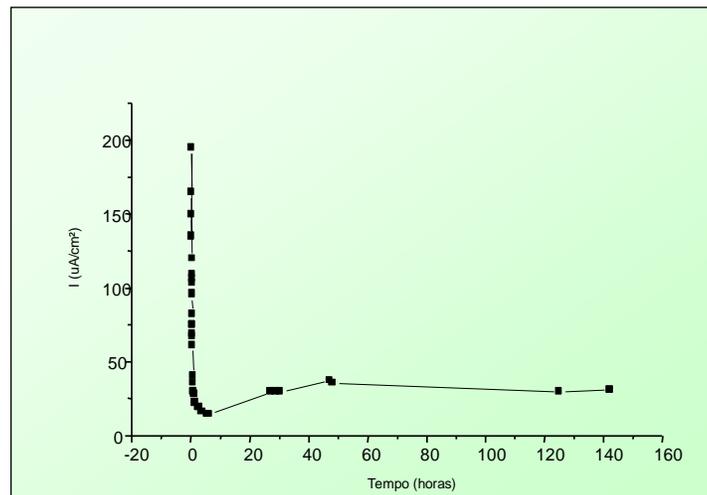


Fig 750 $\text{mV}_{(\text{ENH})}$ com eletrodo de ferro. Meio biótico (pré-inóculo de 7 dias).

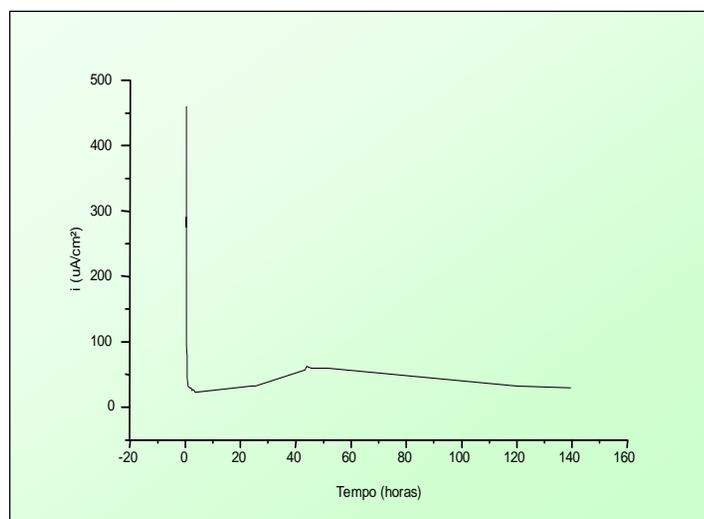


Figura 4.29 – Corrente obtida com aplicação de potencial catódico de $-750\text{ mV}_{(\text{ENH})}$ com eletrodo de ferro. Meio biótico (pré-inóculo de 14 dias)

4.7.2 Ensaio com Aplicação de Potencial Catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

A Figura 4.30 mostra a corrente desenvolvida no ensaio com aplicação de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Neste caso, 10 mL do pré-inóculo com 5 dias foi colocado no meio bacteriológico e, em seguida iniciou-se a polarização. Como pode-se observar nas microscopias realizadas após o término do ensaio, Figuras 4.31 e 4.32 a aderência de microrganismos no substrato metálico nestas condições foi menor se comparada com o observado nas Figuras 4.33, 4.34 e 4.35.

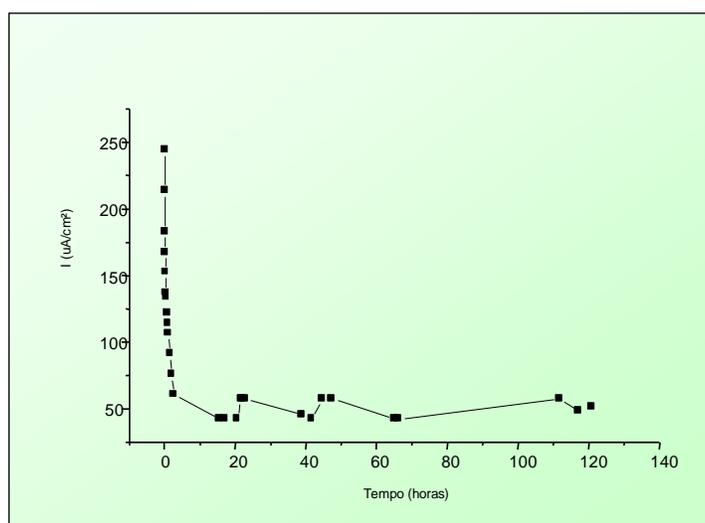


Figura 4.30 – Corrente obtida em ensaio potencioestático com aplicação de potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Eletrodo de ferro em meio PGC inoculado com bactérias no início do experimento.

Com a aplicação do potencial de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$ não se observa picos de corrente pronunciados. As fotos de microscopia eletrônica de varredura, Figuras 4.31, 4.32 4.33, 4,34 e 4.35, mostram que houve uma diminuição da colonização da superfície em relação as

fotografias das amostras em que foi aplicado o potencial de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$ (Figuras 4.24 e 4.25), porém ainda estão claramente presentes. A Figura 4.36 mostra um detalhe da Figura 4.33 em que se observa áreas do corpo de prova de coloração diferente. A Figura 4.37 mostra a formação de óxido sobre a superfície metálica com aplicação de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$.

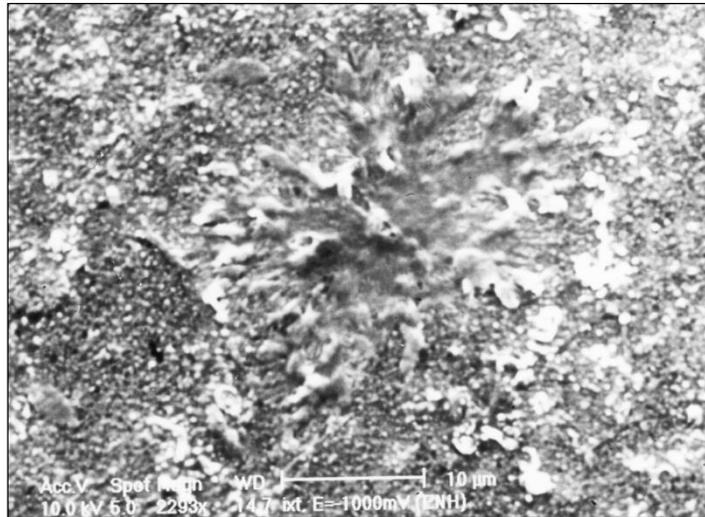


Figura 4.31 – Micrografia da superfície do ferro Armco realizada após o ensaio cronoamperométrico com aplicação de potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$.

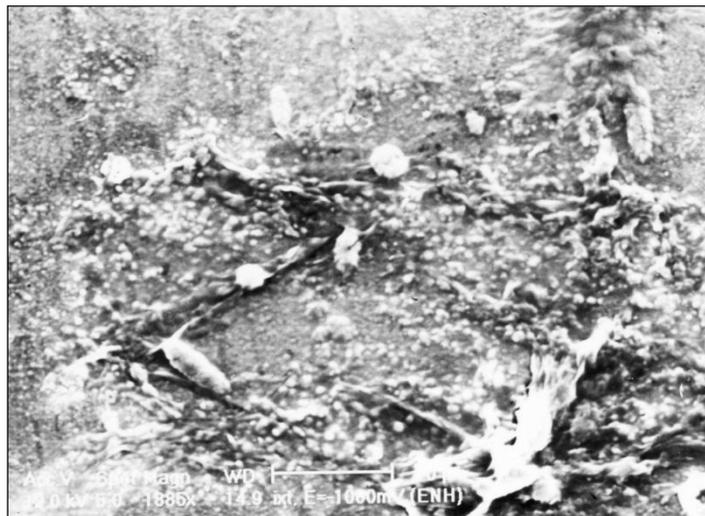


Figura 4.32 – Micrografia do ferro Armco realizada após ensaio cronoamperométrico com aplicação do potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$.

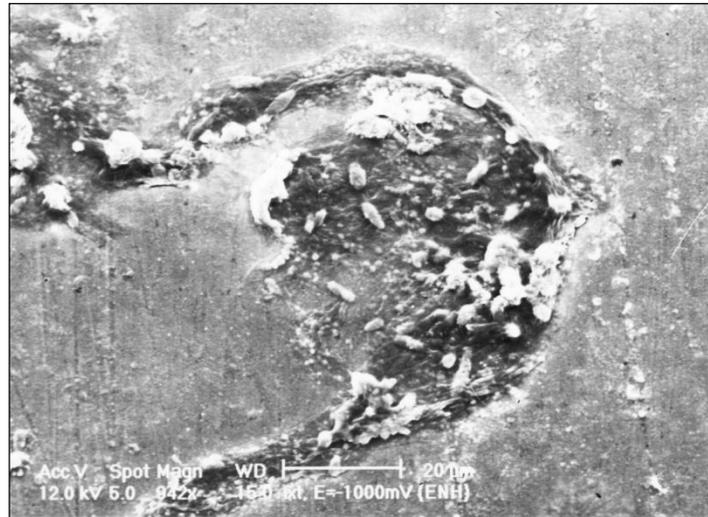


Figura 4.33 – Micrografia do ferro Armco realizada após ensaio cronoamperométrico com aplicação do potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$.

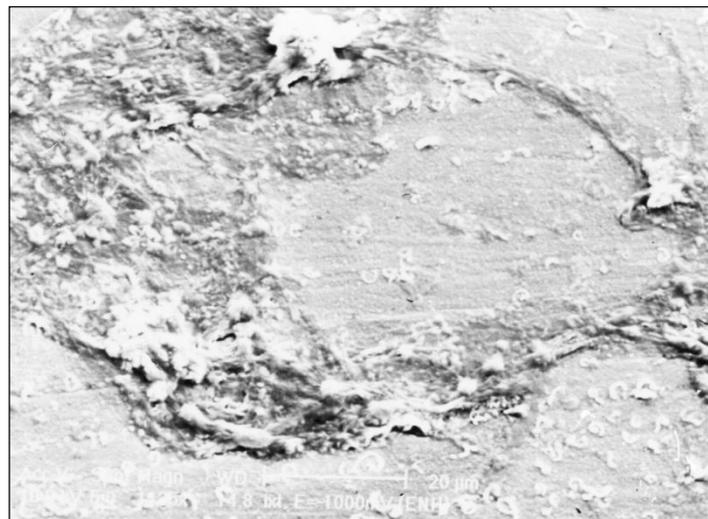


Figura 4.34 – Micrografia realizada em amostra de ferro Armco após ensaio cronoamperométrico com aplicação do potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$.

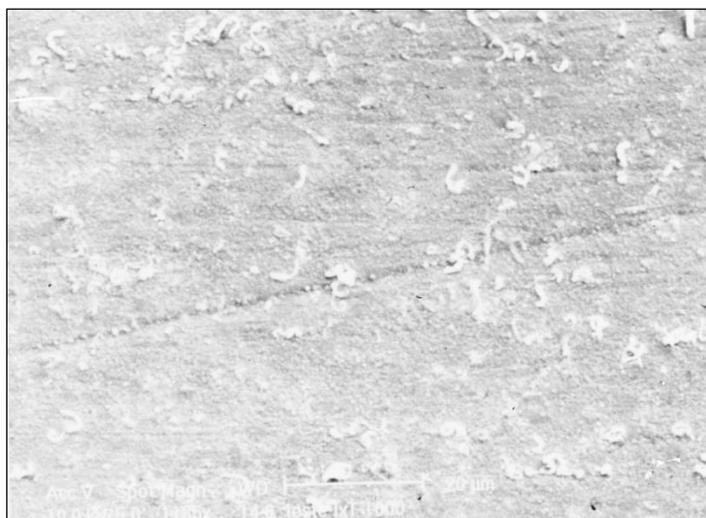


Figura 4.35 – Micrografia realizada em amostra de ferro após ensaio cronoamperométrico com aplicação de potencial catódico de $-1000\text{ mV}_{(\text{ENH})}$.

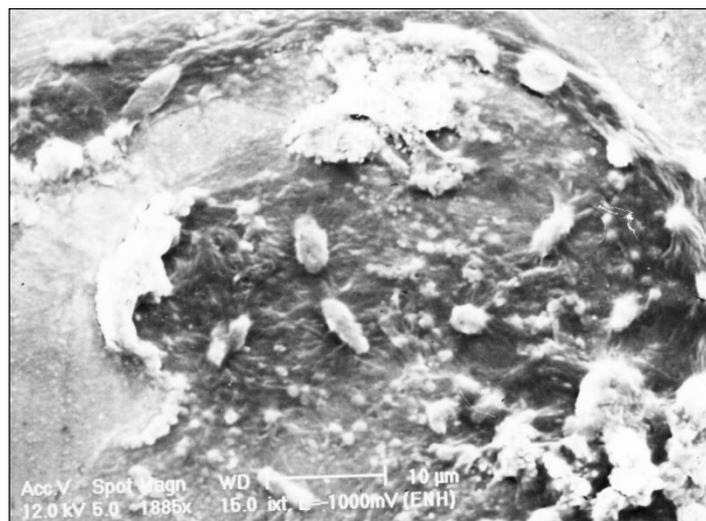


Figura 4.36 – Aparência ao microscópio eletrônico de varredura da amostra de ferro Armco após ensaio cronoamperométrico com aplicação do potencial catódico de $-1000\text{ mV}_{(\text{ENH})}$.

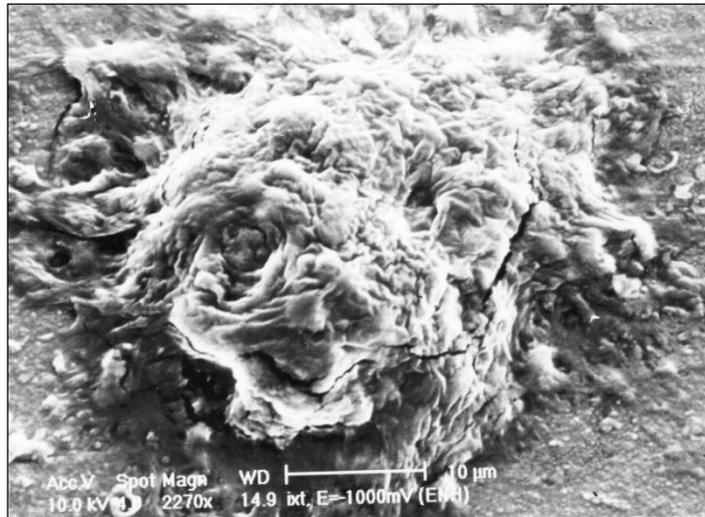


Figura 4.37 – Superfície observada ao microscópio eletrônico de varredura em amostra de ferro Armco após ensaio cronoamperométrico com aplicação do potencial catódico de $-1000\text{ mV}_{(\text{ENH})}$.

4.7.3 Ensaio Cronoamperométrico com Amostras de Aço SAE 4140

A seguir estão mostrados os resultados referentes aos ensaios cronoamperométricos em meio Postgate C com amostras de aço SAE 4140. Foram aplicados potenciais catódicos

de -750 e -1000 mV_(ENH) em meios estéreis e meios contendo bactérias pré-crescidas por 10 dias.

Com aplicação de -750 e -1000 mV_(ENH) em meios abióticos, Figura 4.38 e 4.39, nota-se um comportamento semelhante aos resultados obtidos com amostras de ferro, notando-se também para o aço um rápido decaimento da corrente em função do tempo.

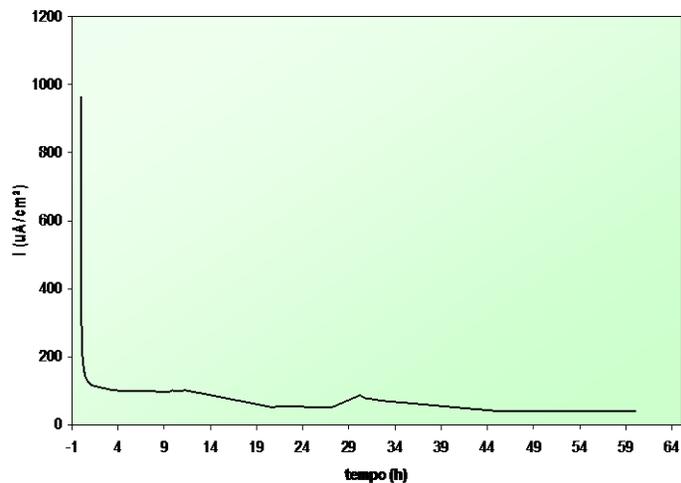


Figura 4.38 – Transiente de corrente obtida com aplicação do potencial catódico de -750 mV_(ENH). Eletrodo de aço SAE 4140 em meio bacteriológico Postgate C abiótico. $E_{\text{corr}} = -98,5$ mV_(ENH)



Figura 4.39 – Transiente de corrente obtida com aplicação do potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Eletrodo de aço SAE 4140 em meio bacteriológico Postgate C abiótico. $E_{\text{corr}} = -108 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

Com aplicação de $-750 \text{ mV}_{(\text{ECS})}$ em meios com bactérias pré-crescidas por 10 dias, Figuras 4.40, 4.41 e 4.42, observa-se um aumento nos valores de corrente. Este resultado tornou-se mais evidente na Figura 4.42.

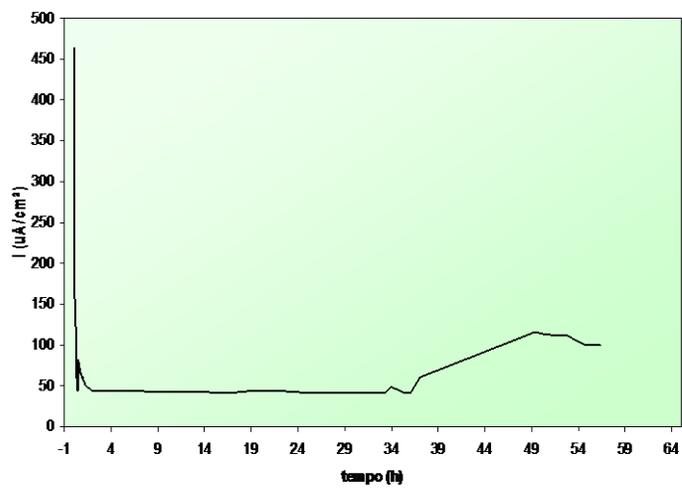


Figura 4.40 – Transiente de corrente obtida com aplicação do potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Eletrodo de aço SAE 4140 em meio bacteriológico Postgate C com bactérias pré crescidas por 10 dias. $E_{\text{corr}} = -568,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

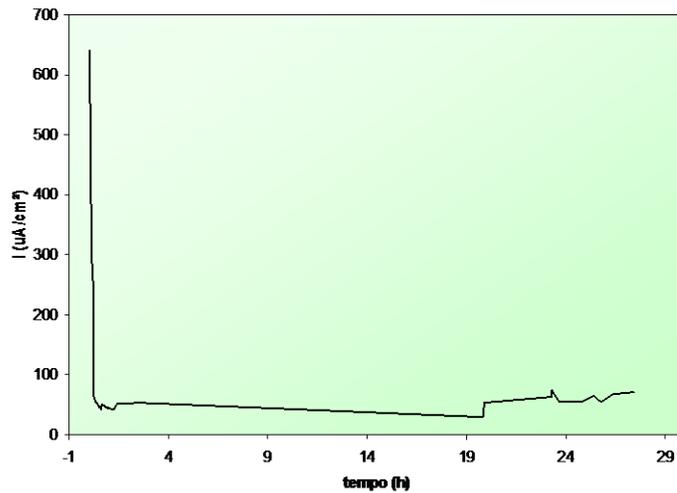


Figura 4.41 – Transiente de corrente obtida com aplicação do potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Eletrodo de aço SAE 4140 em meio bacteriológico Postgate C com bactérias pré crescidas por 10 dias. $E_{\text{corr}} = -398,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

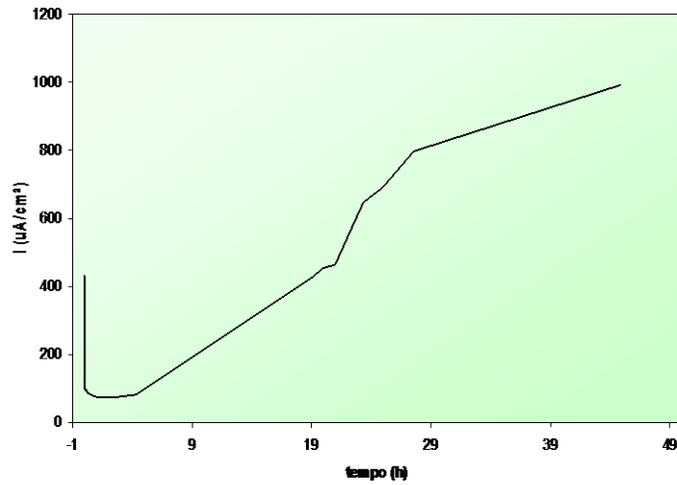


Figura 4.42 – Transiente de corrente obtida com aplicação do potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Eletrodo de aço SAE 4140 em meio bacteriológico Postgate C com bactérias pré crescidas por 10 dias.

$$E_{\text{corr}} = -98,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$$

Com aplicação de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$ não se observou o comportamento descrito anteriormente, sendo que, ao contrário se observou um comportamento similar aos testes abióticos, Figura 4.43.

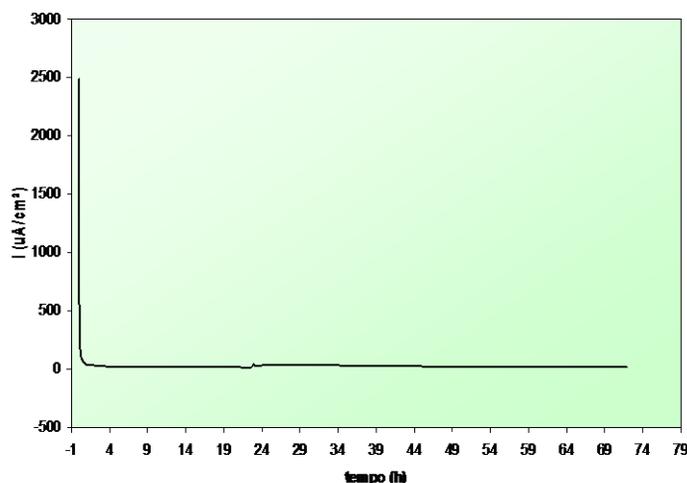


Figura 4.43 – Transiente de corrente obtida com aplicação do potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Eletrodo de aço SAE 4140 em meio bacteriológico Postgate C com bactérias pré crescidas por 10 dias. $E_{\text{corr}} = -638,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

4.8. Ensaios de Permeação

4.8.1 Ensaios de Permeação em Meio Bacteriológico Postgate C com Bactérias Pré-Crescidas

A seguir serão mostrados os resultados referentes aos ensaios de permeação de hidrogênio, utilizando-se amostras de ferro como membrana metálica com diferentes valores de polarização. Os resultados estão sob a forma de gráficos de concentração superficial de hidrogênio (ppm) em função do tempo. Estes resultados não incluem, em geral, a primeira

parte do ensaio, na qual era esperado obter-se a mínima corrente de permeação em meio bacteriológico estéril.

O ensaio realizado ao potencial de corrosão, Figura 4.44, apresentou valores de concentração de hidrogênio de 0,13 ppm com o meio estéril e, após inserir o meio com as bactérias pré- crescidas o valor alcançou o valor de 0,30 ppm . Observa-se que há um declínio da concentração de hidrogênio com o tempo. O consórcio em estudo se desenvolveu durante a realização deste experimento, pois notava-se um forte odor de H_2S e pela observação visual notou-se que o filme de FeS formado sobre a superfície do material metálico neste ensaio, foi mais espesso do que o observado nos outros ensaios.

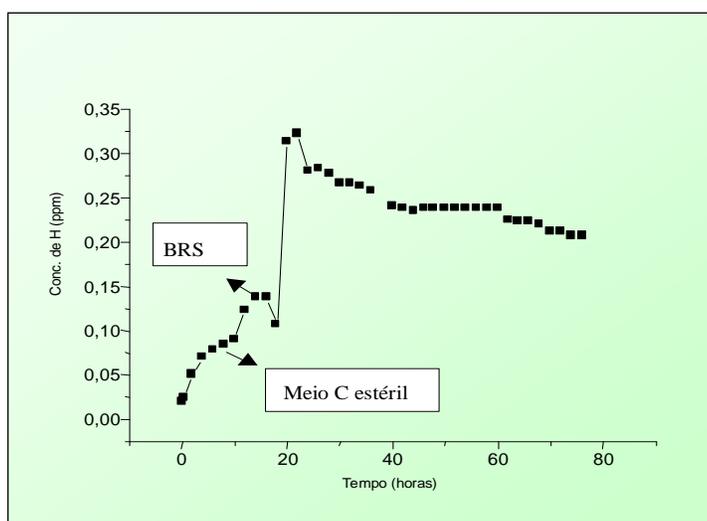


Figura 4.44 – Concentração de hidrogênio no potencial de corrosão ($\cong -450 mV_{(ENH)}$).

Na Figura 4.45 observa-se a curva referente ao ensaio de permeação com aplicação do potencial de $-800 mV_{(ENH)}$ o valor máximo de concentração de hidrogênio medido foi em torno de 0,15 ppm após 10 horas de ensaio, e depois observa-se um declínio da concentração de hidrogênio. A variação do pH na célula de trabalho ficou entre 7,0 no início do ensaio e 8,5 no final.

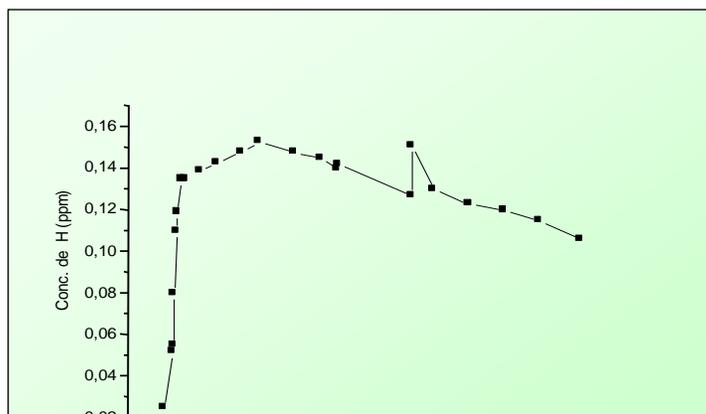


Figura 4.45 – Concentração de hidrogênio com aplicação do potencial catódico de $-800 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$.

Com aplicação do potencial de $-900 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$, mostrado na Figura 4.46, não se observa a diminuição da concentração de hidrogênio mostrada no gráfico anterior, a qual permanece em torno de 0,35 ppm, chegando a valores de 0,4 ppm no final do ensaio. Após a retirada da amostra metálica de ferro da célula de permeação, observou-se que a área exposta ao meio bacteriológico apresentava-se recoberta por um filme preto, não homogêneo e não muito espesso. O pH inicial da célula ficou em torno de 7,0 no início do ensaio e 9,0 no final.

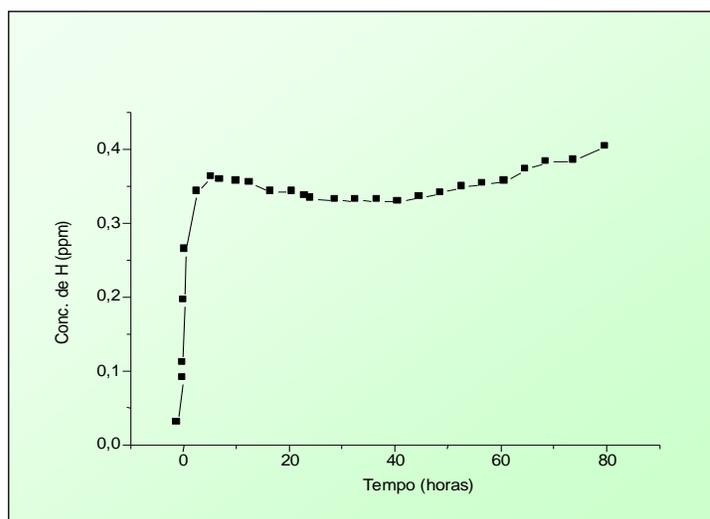


Figura 4.46 – Concentração de hidrogênio com aplicação do potencial catódico de $-900 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

Com a aplicação de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$, os valores da concentração de hidrogênio também permaneceram constantes, porém em torno de 0,3 ppm, apresentando uma tendência para diminuição da concentração de hidrogênio no término do ensaio (Figura 4.47). O pH medido no início do ensaio foi de 8,0 e no final 10,0 .

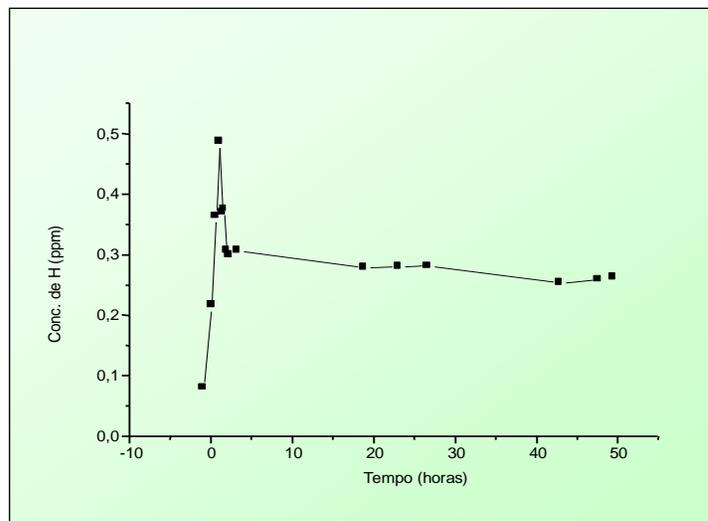


Figura 4.47 – Concentração de hidrogênio com aplicação do potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

A seguir estão mostradas as microscopias eletrônica de varredura da superfície das amostras de ferro , após a realização do ensaio de permeação.

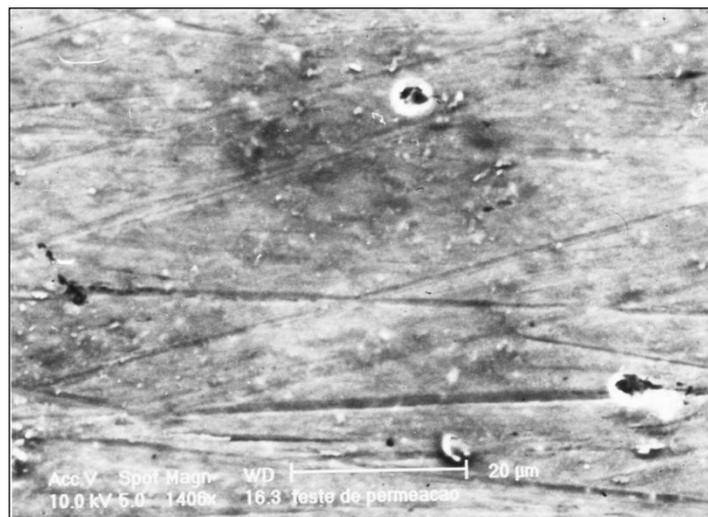


Figura 4.48 – Aparência ao microscópio eletrônico de varredura da superfície da amostra de ferro Armco após 8 dias em ensaio de permeação eletroquímica. Potencial catódico aplicado de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$.

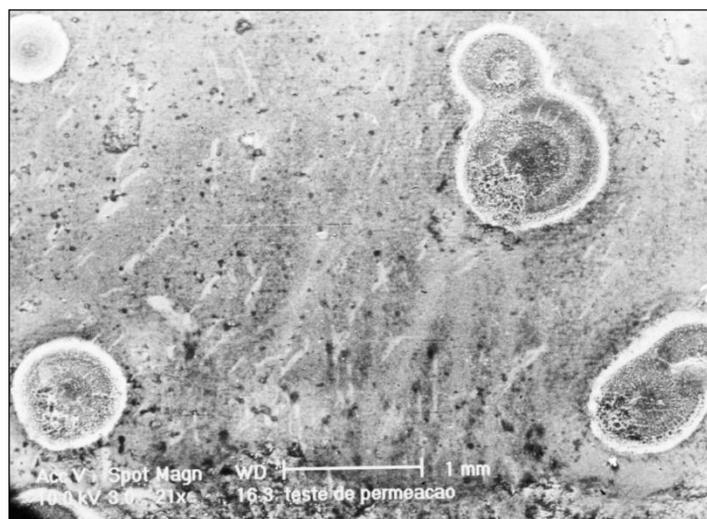


Figura 4.49 – Micrografia da superfície da membrana de ferro Armco (lado catódico) após 8 dias de ensaio na célula de permeação eletroquímica. Potencial catódico aplicado de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$.



Figura 4.50 – Aparência da superfície da membrana de ferro Armco ao microscópio eletrônico de varredura após 8 dias de ensaio na célula de permeação eletroquímica. Potencial catódico aplicado de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$.

Na Figura 4.51 é mostrado o resultado da permeação com a aplicação de $-1100 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. A concentração de hidrogênio ficou em torno de 0,55 ppm e observa-se que, após 30 horas de realização do ensaio, ocorreu um declínio da concentração de hidrogênio seguida de aumento que alcançou valores em torno de 0,65 ppm de hidrogênio.

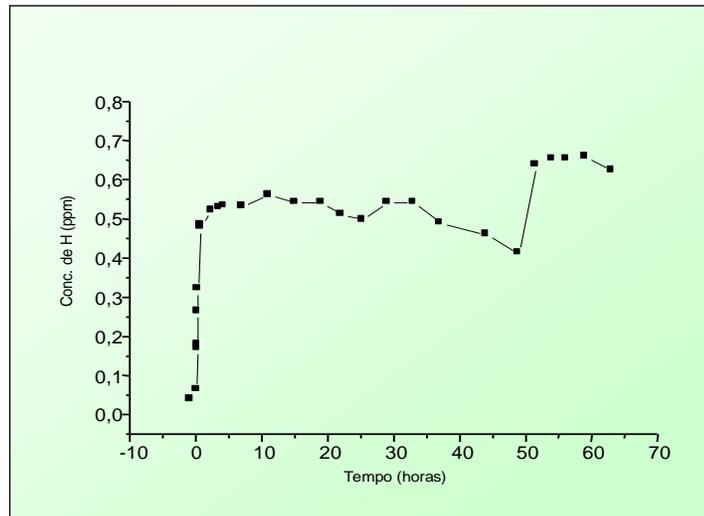


Figura 4.51– Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de $-1100 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

Com a aplicação de $-1200 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$ obteve-se nas primeiras 20 horas de realização do ensaio valores de 0,75 ppm de hidrogênio e depois observa-se um certo declínio obtendo-se valores de 0,65 ppm, como é mostrado na Figura 4.52. O pH no final do ensaio ficou em torno de 9,0, e observou-se além do depósito de FeS sobre a superfície metálica, depósitos com aparência de hidóxidos devido a um provável aumento maior de pH que ocorre muito próximo à superfície do corpo de prova e que não se pode detectar com as medidas usando eletrodos convencionais de pH.

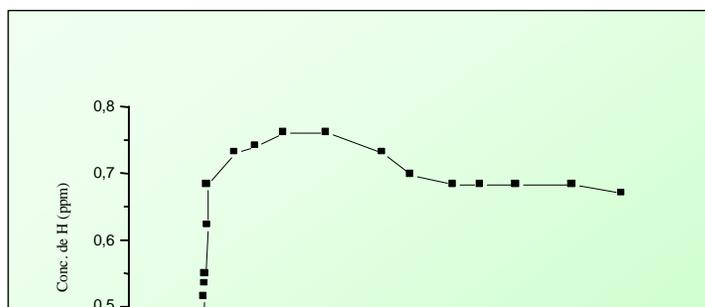


Figura 4.52 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de $-1200 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$.

Com aplicação de $-1300 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$ observa-se uma diminuição dos valores da concentração de hidrogênio em relação aos ensaios já mostrados, $0,35 \text{ ppm}$ de hidrogênio com uma diminuição em torno de 30 horas e depois a estabilização e novamente apresentando um declínio no final do ensaio, como pode-se observar na Figura 4.53.

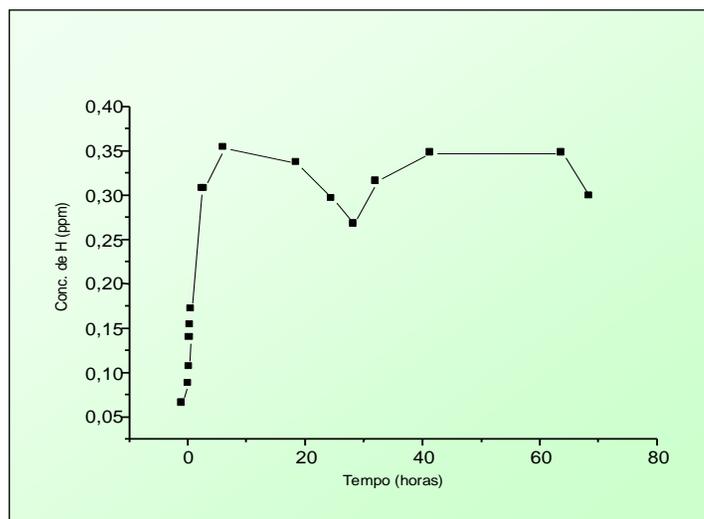


Figura 4.53 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico $-1300 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

O ensaio de permeação realizado com aplicação de $-1500 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$, Figura 4.54, mostrou uma grande variação da concentração de hidrogênio nas primeiras 60 horas, com a concentração de hidrogênio alcançando valores entre 1,5 e 1,0 ppm, depois de 70 horas de realização do ensaio. Em torno de 120 horas, no entanto, pôde-se observar valores que inicialmente tendem a diminuir e após um curto espaço de tempo tornam-se constantes até o final. Para este caso, os ensaios de acompanhamento do desenvolvimento dos microrganismos, realizados no final do ensaio, retirando-se uma pequena alíquota do meio que estava na célula de permeação (lado catódico) e inoculando em seguida em meio Postgate B, apresentaram resultados negativos. Provavelmente o alto pH deve ter interferido, pois no final do experimento foi medido o pH 13. Não foram detectadas células viáveis no final do ensaio.

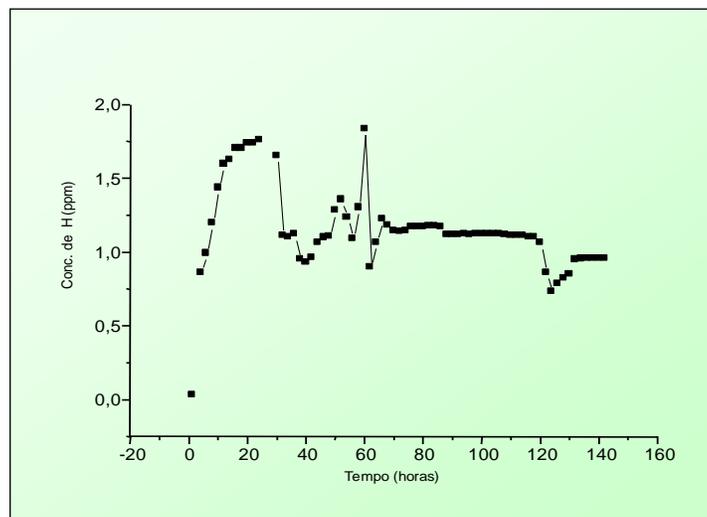


Figura 4.54 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de $-1500 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

A Tabela 4.5, mostra as concentrações de hidrogênio em ppm medidas no meio estéril em relação as concentrações de hidrogênio após realizada a troca para o meio com as bactérias pré-crescidas por 10 dias.

Tabela 4.5 – Concentração de hidrogênio medido no meio estéril e imediatamente após a colocação no meio inoculado com BRS (tempo = 10 dias) com aplicação de diferentes potenciais catódicos

E aplicado $\text{mV}_{(\text{ENH})}$	[H] (ppm) meio estéril	[H] (ppm) meio inoculado
E corrosão	0,14	0,32
-800	0,02	0,13
-900	0,02	0,35
-1000	0,07	0,49
-1100	0,04	0,5
-1200	0,36	0,68
-1300	0,06	0,31
-1500	0,6	1,6

Estes valores podem ser visualizados na Figura 4.55:

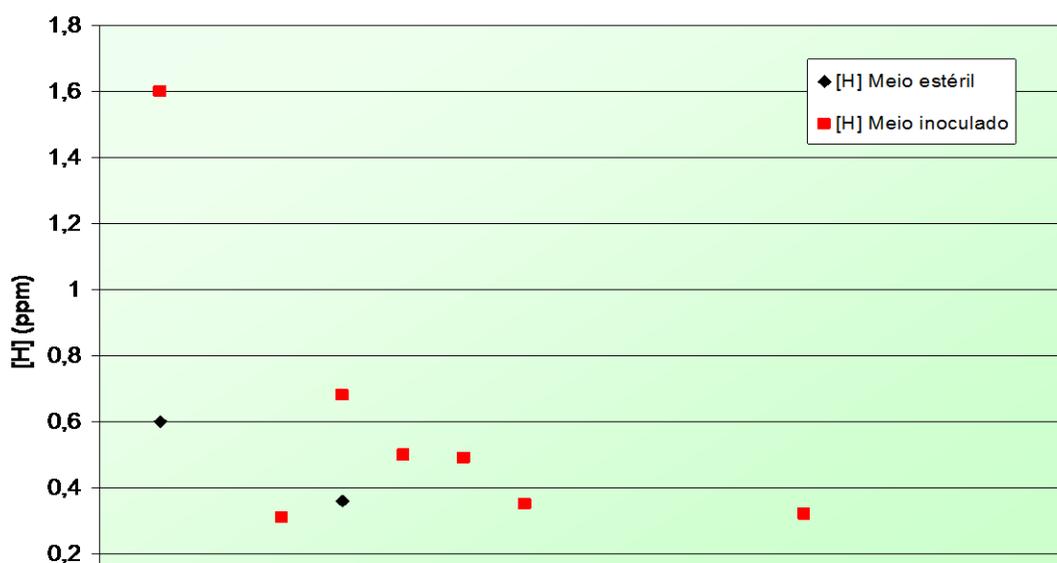


Figura 4.55 – Medidas das concentrações de hidrogênio no meio estéril e imediatamente após a troca com o meio inoculado com BRS (tempo = 10 dias) com aplicação de diferentes potenciais catódicos.

4.8.2. Ensaio de Permeação Realizados com a Inoculação Diretamente na Célula de Permeação

Os ensaios mostrados a seguir foram realizados com meio bacteriológico estéril, ao qual foi adicionado, diretamente na célula de permeação, 10 mL do pré-inóculo com 10 dias de crescimento. O pré-inóculo foi inserido na célula de permeação após a estabilização da corrente de permeação que ocorria em torno de 24 horas (extração de hidrogênio), o meio estéril então era trocado e imediatamente após eram adicionados 10 mL do pré-inóculo com seringa. Assim como nos casos anteriores, foram realizados ensaios com diferentes potenciais catódicos aplicados.

No ensaio de permeação ao potencial de corrosão, Figura 4.56, observa-se nas primeiras 10 horas um valor constante em torno de 0,15 ppm de hidrogênio e após um aumento significativo chegando a valores próximos a 0,20 ppm de hidrogênio. A partir deste ponto observa-se um declínio na concentração de hidrogênio com o tempo. Nesta condição observou-se o desenvolvimento dos microrganismos.

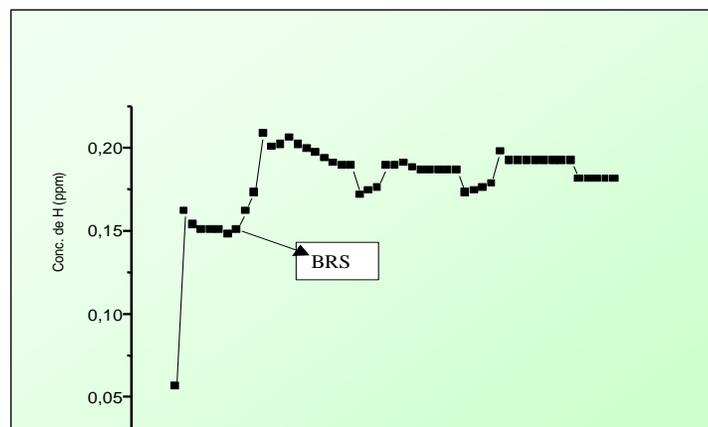


Figura 4.56 – Concentração de hidrogênio no potencial de corrosão. ($E \cong -450 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$).

Na foto de microscopia eletrônica, Figura 4.57, observa-se a superfície metálica com uma grande quantidade de pites, em uma região onde o filme não está aderente.

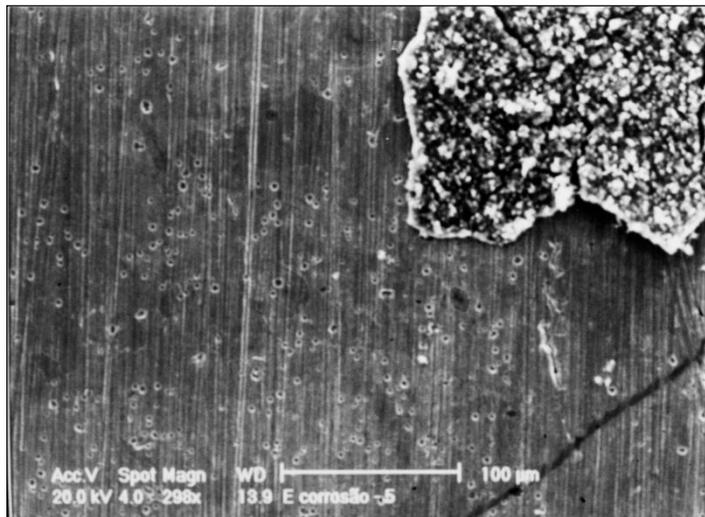


Figura 4.57 – Aparência da superfície da membrana de ferro Armco ao microscópio eletrônico de varredura após ensaio de permeação eletroquímica, no potencial de corrosão. ($E \cong 700 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$).

A Figura 4.58 é referente ao ensaio de permeação com aplicação do potencial de $-700 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Observou-se o crescimento dos microrganismos durante o ensaio, bem como forte cheiro de H_2S . A concentração de hidrogênio variou consideravelmente, registrando valores entre 0,60 ppm e 0,45 ppm de hidrogênio. Depois de cerca de 80 horas de realização do ensaio nota-se uma diminuição de concentração de hidrogênio.

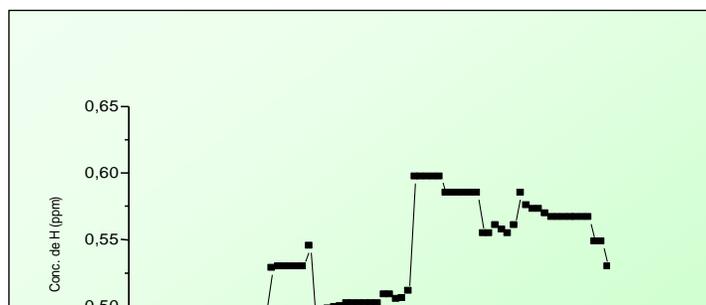


Figura 4.58 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de $-700 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

Com aplicação do potencial de $-800 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$, Figura 4.59, o comportamento quanto ao desenvolvimento dos microrganismos foi o mesmo do experimento citado anteriormente, porém a concentração de hidrogênio apresentou valores menores, em torno de 0,015. Neste ensaio observa-se que a concentração de hidrogênio aumenta constantemente até alcançar valores da ordem de 0,020 e depois apresenta um declínio na parte final da realização do ensaio, com um valor em torno de 0,012 ppm.

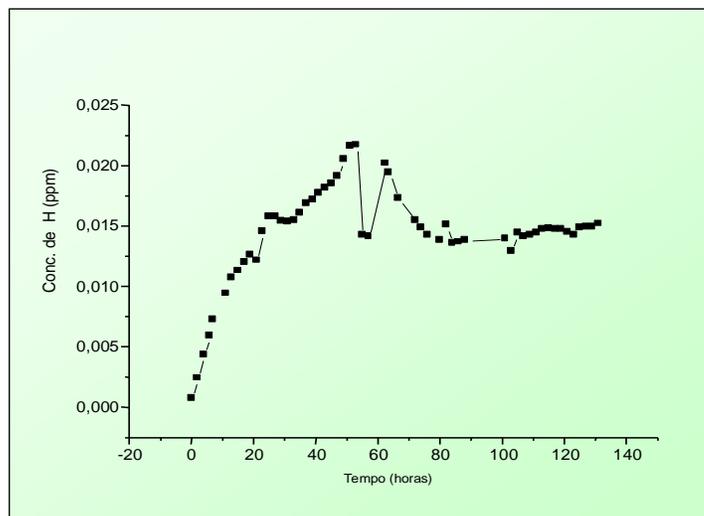


Figura 4.59 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de $-800 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

Com a aplicação do potencial de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$, Figura 4.60, observou-se o desenvolvimento do inóculo em estudo, porém com turvação do meio (que pode representar contaminação de bactérias aeróbicas do meio próximo a célula onde estava sendo realizado o experimento) e odor característico de H_2S . Observa-se que há um aumento crescente da concentração de hidrogênio durante toda a realização do ensaio e observou-se após a retirada da amostra metálica de ferro, um filme de óxido sobre a superfície metálica, muito espesso, provavelmente de FeS .

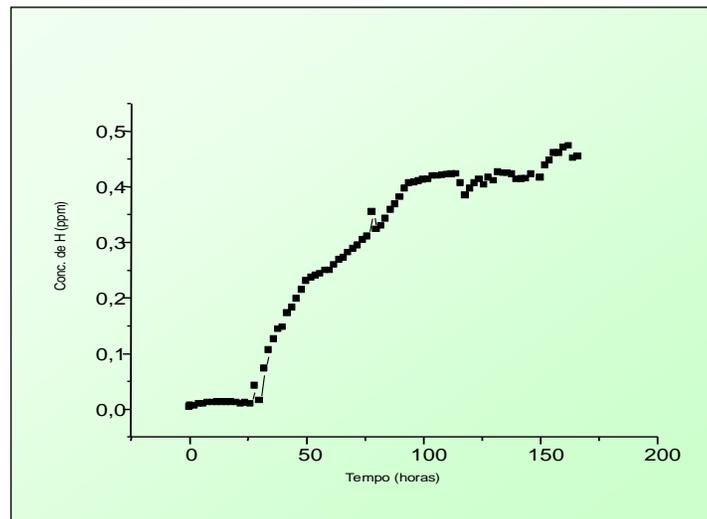


Figura 4.60 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

Na Figura 4.61 está representado o ensaio de permeação eletroquímica em que foi aplicado o potencial de $-1200 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Observou-se o mesmo comportamento descrito anteriormente no ensaio com potencial aplicado de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$, porém não foi observado odor de H_2S durante a realização do ensaio. pH final do experimento: 10, no contra eletrodo 1,0.

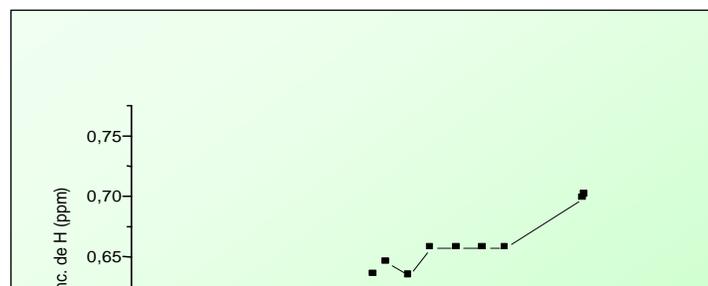


Figura 4.61 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de $-1200 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$

Com a aplicação de $-1400 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$, Figura 4.62, observa-se inicialmente um pequeno aumento da concentração de hidrogênio permanecendo em torno de 0,06 ppm até 80 horas de polarização e depois observa-se um aumento significativo alcançando o valor máximo de 0,10 ppm com 100 horas do ensaio. Porém, nos ensaios de avaliação do desenvolvimento dos microrganismos realizados no final do experimento, não foram detectados microrganismos viáveis. O valor do pH final na célula de permeação foi de 13,0 e no contra eletrodo 2,0.

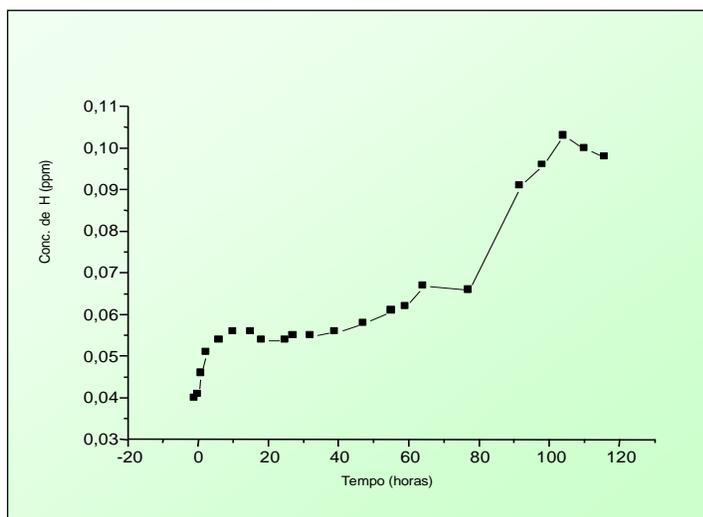


Figura 4.62 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de $-1400\text{ mV}_{(\text{ENH})}$

A seguir, é apresentada micrografia de microscopia eletrônica de varredura de amostra ensaiada a $-1400\text{ mV}_{(\text{ECS})}$, e nas mesmas condições do ensaio descrito acima. Para realizar a análise da superfície nestas condições de polarização, foi feito um experimento paralelo ao ensaio de permeação, no entanto, nas mesmas condições desse. Devido as dificuldades de se analisar a amostra do ensaio de permeação, principalmente em relação ao tamanho da amostra e a deposição de ouro por sputtering que era necessária realizar antes de observar no microscópio, alguns ensaios foram realizados desta forma. Nesta Figura observa-se uma estrutura compacta do filme, provavelmente de FeS, sendo que em alguns pontos ocorreu um rompimento, podendo-se observar algumas células bacterianas sob esta estrutura.

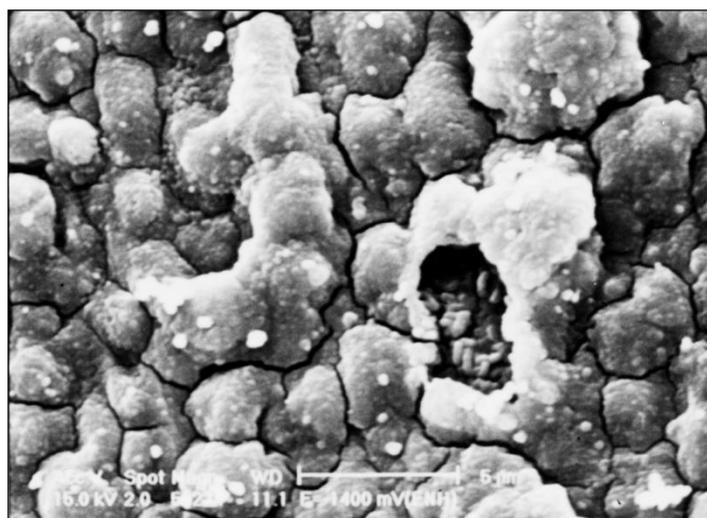


Figura 4.63 – Micrografia da amostra de ferro Armco após ensaio paralelo de permeação, com aplicação do potencial catódico de $-1400\text{mV}_{(\text{ENH})}$.

Em $-1500\text{mV}_{(\text{ENH})}$, Figura 4.64, observou-se o desenvolvimento de microrganismos no final do ensaio, e o valor da concentração de hidrogênio ficou entre 0,65 e 1,0 ppm.

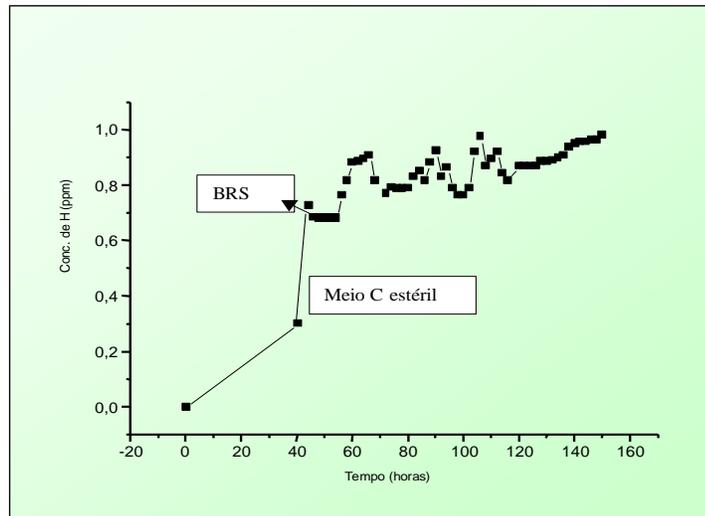


Figura 4.64 – Concentração de hidrogênio com aplicação de potencial catódico de $-1500\text{mV}_{(\text{ENH})}$.

As Figuras 4.65, 4.66 e 4.67 do corpo de prova usado no ensaio de permeação e mostram a superfície metálica completamente recoberta por filme de óxidos com estruturas tipo agulha, provavelmente de hidróxidos formados durante a polarização catódica.



Figura 4.65 – Micrografia da amostra de ferro Armco, retirada após ensaio de permeação eletroquímica, com aplicação de potencial catódico de $-1500\text{ mV}_{(\text{ENH})}$.



Figura 4.66 – Micrografia da amostra de ferro Armco, retirada após ensaio de permeação eletroquímica, com aplicação do potencial catódico de $-1500\text{ mV}_{(\text{ENH})}$.

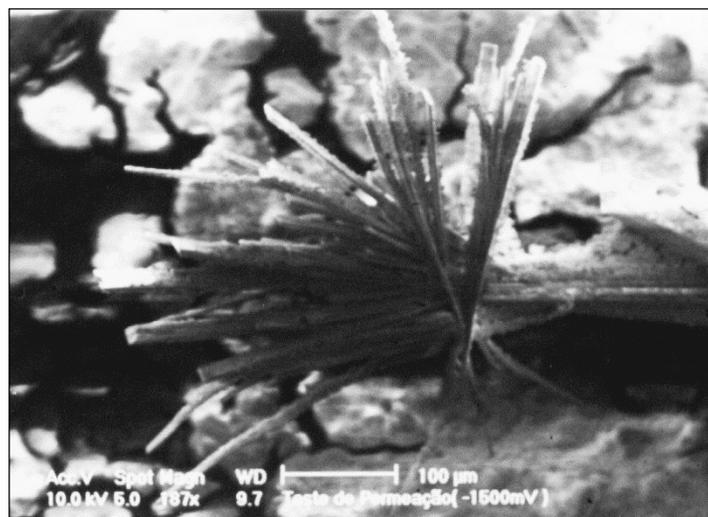


Figura 4.67 – Aparência ao microscópio eletrônico de varredura da amostra de ferro Armco, retirada após ensaio de permeação eletroquímica, com aplicação do potencial catódico de $-1500 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$.

A seguir está a Tabela 4.6, com os valores da concentração de hidrogênio medida imediatamente após a injeção do pré-inóculo e na Figura 4.68 estes valores estão sumarizados graficamente.

Tabela 4.6 – Medidas das concentrações de hidrogênio imediatamente após a colocação do inóculo no meio estéril

E aplicado	[H] (ppm) meio estéril	[H] (ppm) meio inoculado
E corrosão	0,15	0,22
-700	0,45	0,51
-800	0,001	0,01
-1000	0,01	0,15
-1200	0,52	0,55
-1400	0,039	0,055
-1500	0,3	0,75

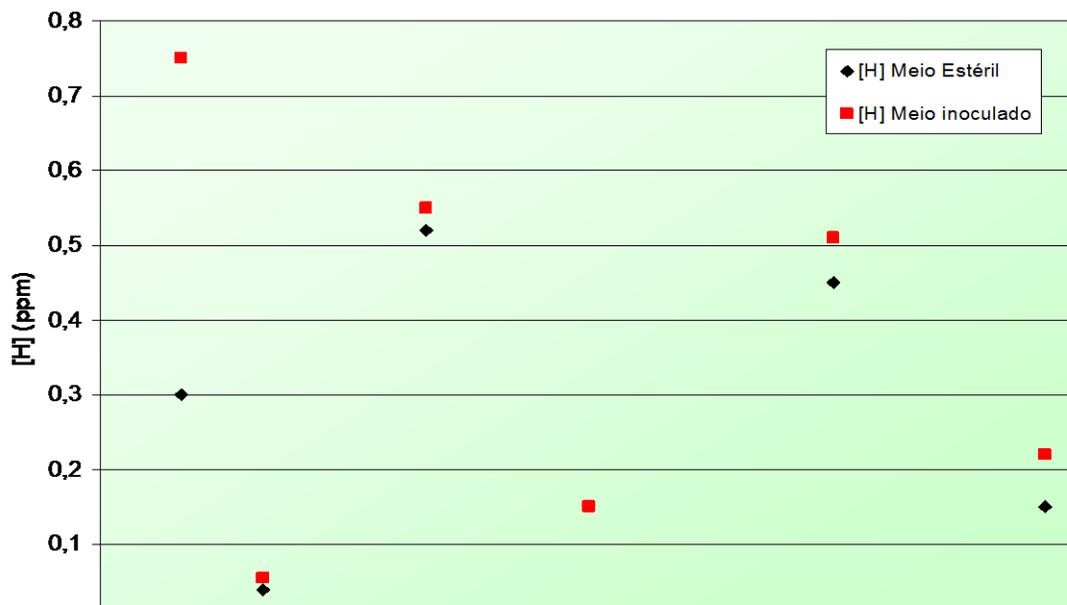


Figura 4.68 – Medidas das concentrações de hidrogênio em amostras de ferro Armco no meio bacteriológico PGC abiótico e imediatamente após a colocação do inóculo, em diferentes potenciais catódicos.

4.9 Ensaios de Baixa Taxa de Deformação (BTD) em Amostras de Aço SAE 4140

A seguir são mostradas os resultados dos ensaios de tração com baixa taxa de deformação (10^{-6} s^{-1}) com corpos de prova de aço SAE 4140. Estas curvas foram representadas sem correção da deformação elástica da máquina, que impede de ver-se o trecho elástico como proveniente resultado exclusivo do corpo de prova. A Figura 4.69 mostra o ensaio realizado ao ar, e (para fins comparativos) na Figura 4.70 pode-se observar a macrografia do corpo de prova após a realização do ensaio, com a característica estrição que está normalmente presente em uma fratura dúctil.

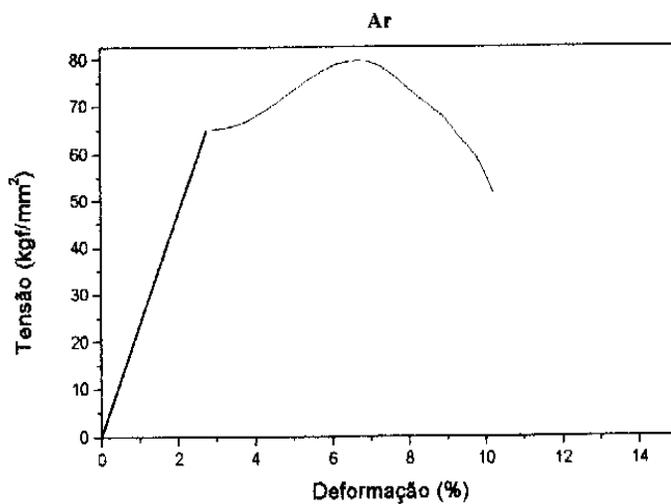


Figura 4.69 – Curva tensão x deformação para corpo de prova tracionado ao ar.



Figura 4.70 – Fotografia do corpo de prova após ensaio de tração ao ar.

Na Figura 4.71 observa-se o ensaio de tração realizado em óleo mineral neutro e na Figura 4.72 a micrografia do corpo de prova correspondente, apresentando também uma significativa estrição do corpo de prova e uma característica fratura dúctil (tipo taça e cone).

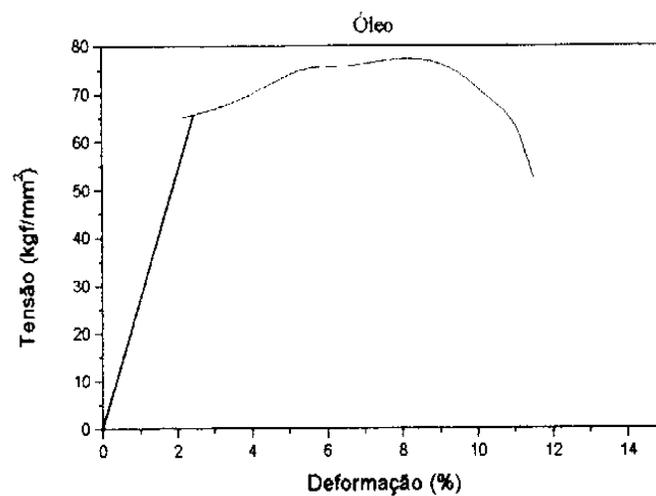


Figura 4.71 – Curva tensão x deformação para corpo de prova tracionado em óleo mineral.



Figura 4.72 – Fotografia do corpo de prova de tração após ensaio de tração em óleo mineral.

Na Figura 4.73 está o resultado do teste de tração BTD do aço em meio bacteriológico estéril, e nas Figuras 4.74 e 4.75 as fotografias dos corpos de prova de tração usados nestes ensaios. Na Figura 4.74 é a fotografia do corpo de prova como retirado do ensaio e na Figura 4.75 o corpo de prova foi lixado com lixa 1000 para observar a presença de trincas. Neste caso, não foram observadas trincas.

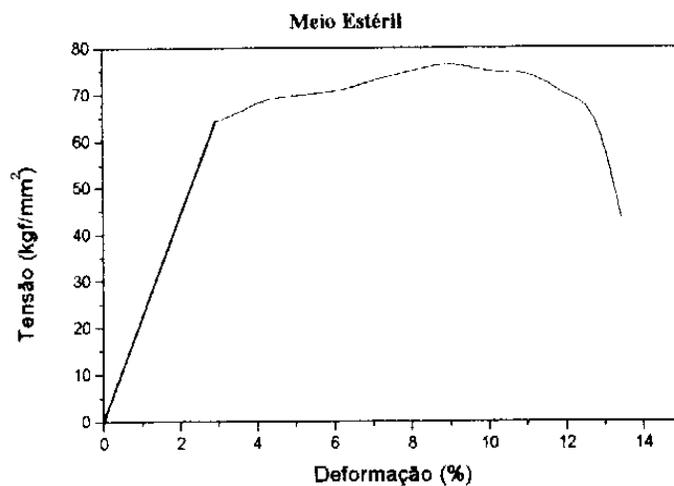


Figura 4.73 – Curva tensão x deformação para corpo de prova tracionado em meio bacteriológico Postgate C estéril.



Figura 4.74 – Fotografia do corpo de prova após ensaio de tração (sem lixa) em meio PGC estéril.



Figura 4.75 – Fotografia do corpo de prova de tração em meio Postgate C estéril (após lixa 1000)

A Figura 4.76 mostra o resultado do ensaio de tração realizado em meio bacteriológico com as bactérias pré-crescidas por 10 dias. A tração iniciou imediatamente após a colocação do meio contaminado na célula de tração. Na Figura 4.77 mostra-se o ensaio realizado com bactérias pré-crescidas, porém, neste ensaios, o corpo de prova ficou em imersão nesta solução contaminada por bactérias durante 60 horas antes de iniciar o experimento.

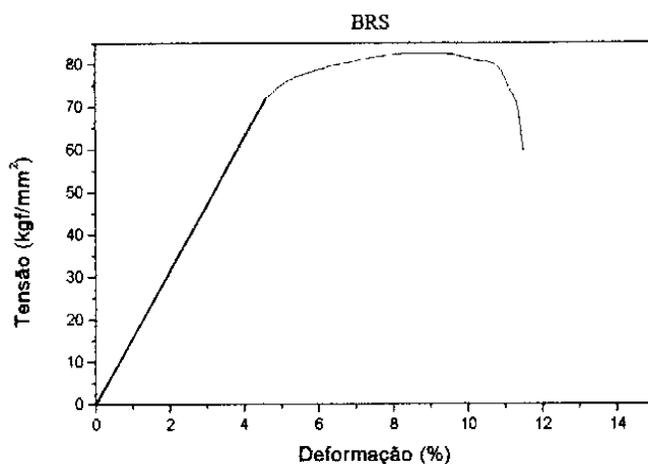


Figura 4.76 – Curva tensão x deformação para corpo de prova tracionado em meio bacteriológico com bactérias pré-crescidas por 10 dias.

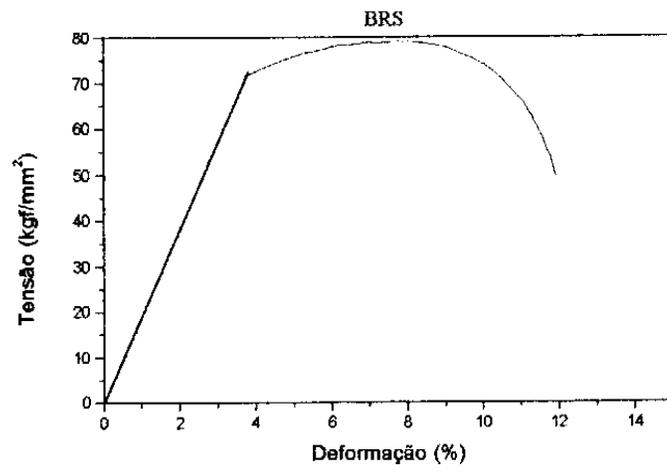


Figura 4.77 – Curva tensão x deformação para corpo de prova tracionado em meio bacteriológico com bactérias pré-crescidas por 10 dias, após imersão prévia por 60 horas.



Figura 4.78 – Fotografia do corpo de prova de tração após ensaio em meio com bactérias pré-crescidas por 10 dias, após imersão prévia por 60 horas.

Na Figura 4.79 observa-se o resultado do ensaio de tração com o meio Postgate C estéril, no qual foi adicionado antes de começar o experimento, 10 mL de pré-inóculo. Na Figura 4.80 foi utilizado o meio nas mesmas condições do experimento anterior, porém o ensaio foi realizado com a aplicação de potencial de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$.

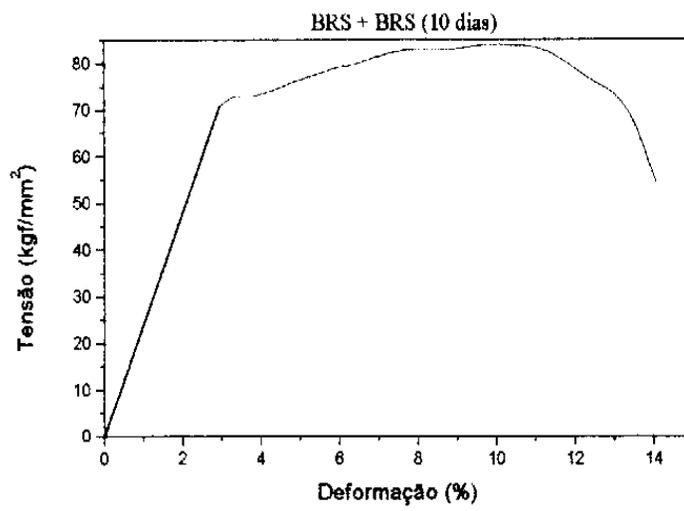


Figura 4.79 – Curva tensão x deformação para corpo de prova tracionado em meio bacteriológico PGC +10 mL de pré-inóculo.

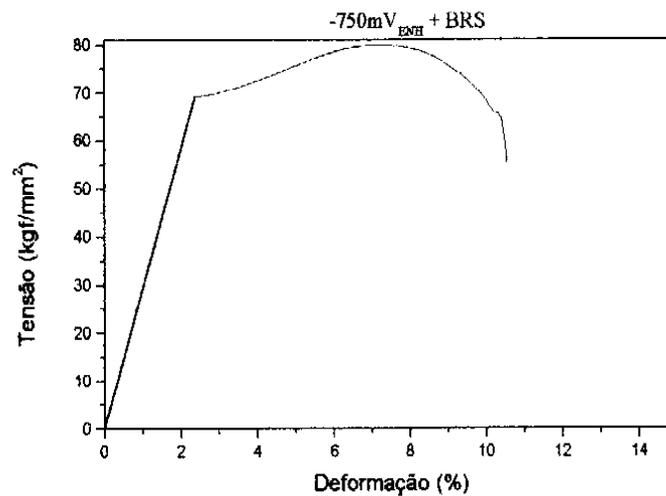


Figura 4.80 – Curva tensão x deformação para corpo de prova tracionado em meio bacteriológico PGC + 10 mL de pré-inóculo e aplicação de potencial catódico de $-750\text{ mV}_{(ENH)}$

Na Figura 4.81 está mostrado a fotografia do corpo de prova após a retirada do ensaio de tensão x deformação em meio bacteriológico com pré-inóculo ao potencial de corrosão, e nota-se fratura frágil. Esta fotografia foi realizada após lixamento (# 1000) do corpo de prova e observa-se uma zona mais escura devida aos produtos de corrosão.



Figura 4.81 – Fotografia do corpo de prova após ensaio de tração, ao potencial de corrosão, em meio PGC com bactérias. Observa-se a superfície lateral do corpo de prova corroída. (Depois da lixa 1000)

A Figura 4.82 representa o resultado de tração BTB com bactérias pré-crescidas por 10 dias com aplicação de potencial de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. O corpo de prova permaneceu no meio contaminado e com aplicação deste potencial durante 24 horas antes da realização do experimento. A Figura 4.83 mostra o resultado do ensaio de tração realizado nas mesmas condições do citado anteriormente, porém o potencial aplicado foi de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$.

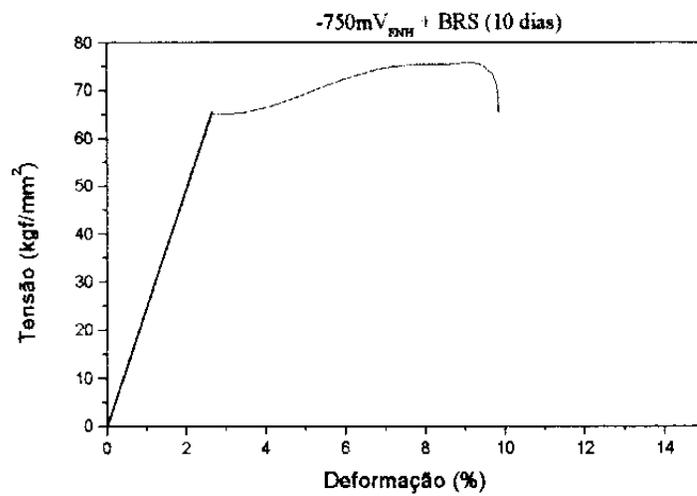


Figura 4.82 – Curva tensão x deformação para corpo de prova tracionado em meio bacteriológico PGC com bactérias pré-crescidas por 10 dias e aplicação de potencial catódico de $-750\text{ mV}_{\text{ENH}}$.

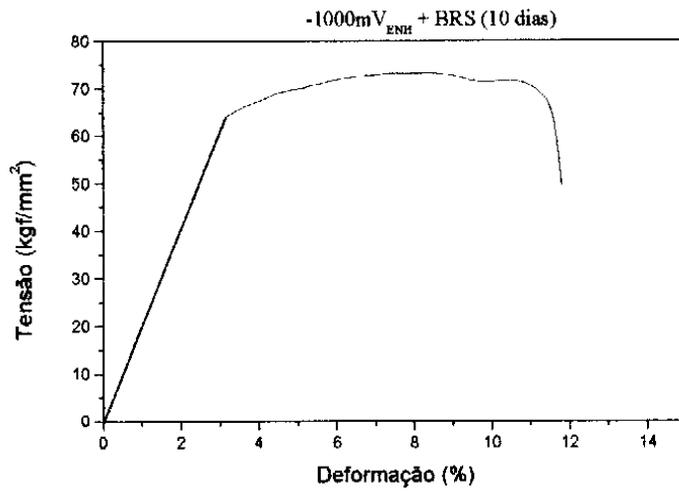


Figura 4.83 – Curva tensão x deformação para corpo de prova tracionado em meio bacteriológico PGC com bactérias pré-crescidas por 10 dias e aplicação de potencial catódico de $-1000 \text{ mV}_{(ENH)}$.

A Figura 4.84 mostra a aparência do corpo de prova após o ensaio de tração BTD com aplicação de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$, observa-se trincas próximas a fratura e também a aderência de produtos oriundos do meio com bactérias, provavelmente o início da formação do biofilme. A Figura 4.85 mostra o mesmo corpo de prova após ser lixado com lixa 1000, nota-se após o lixamento que as trincas não são muito profundas, porém a superfície do aço apresenta-se marcada.

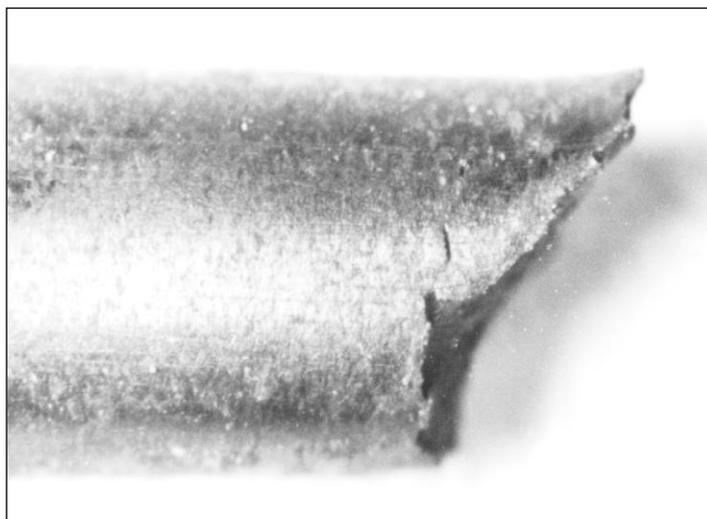


Figura 4.84 – Fotografia do corpo de prova após ensaio de tração BTD. Meio bacteriológico PGC com BRS pré-crescidas por 10 dias. O corpo de prova permaneceu em imersão por 24h antes de iniciar o ensaio, potencial catódico aplicado de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$.

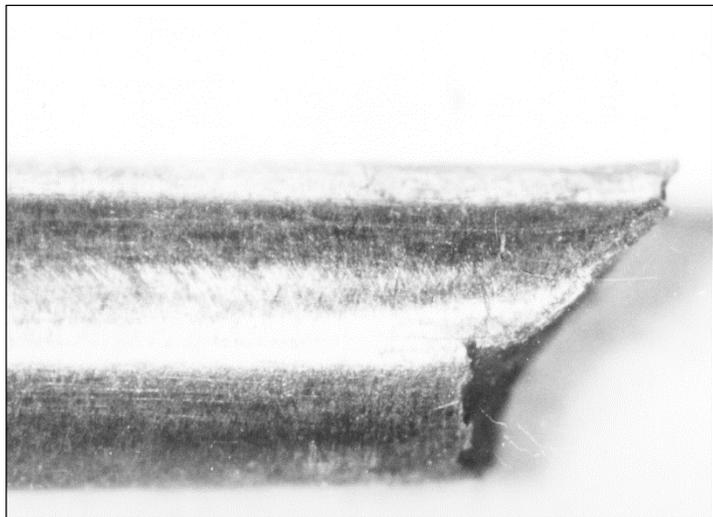


Figura 4.85 – Fotografia do corpo de prova após realização do ensaio de tração BTB, com tratamento de lixa 1000. Meio bacteriológico PGC com BRS pré-crescidas por 10 dias. O corpo de prova permaneceu em imersão por 24 h antes de iniciar o ensaio, aplicação de potencial catódico de -1000

A seguir estão as microscopias eletrônicas de varredura da fratura dos corpos de prova. Na Figura 4.86 está mostrada a fratura obtida no ensaio de tração em óleo mineral neutro: observa-se característica dúctil. Na Figura 4.87 observa-se a fratura em meio PGC estéril apresentando um número significativo de trincas radiais.

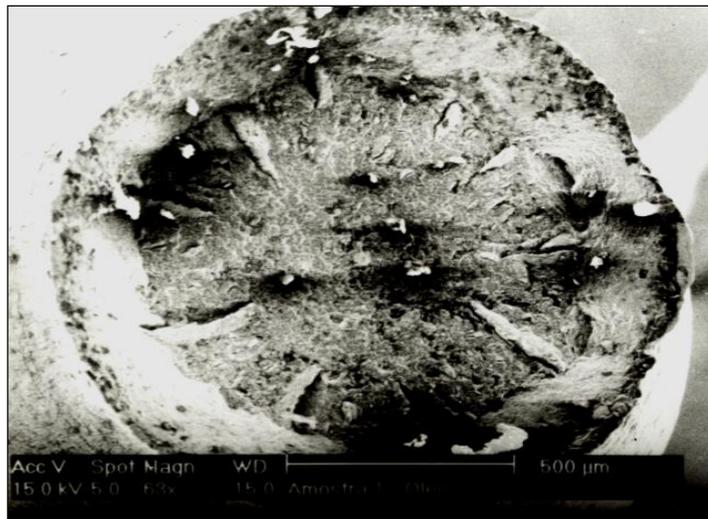


Figura 4.86 – Aparência da fratura do aço SAE 4140 após ensaio de tração RTD em óleo mineral neutro

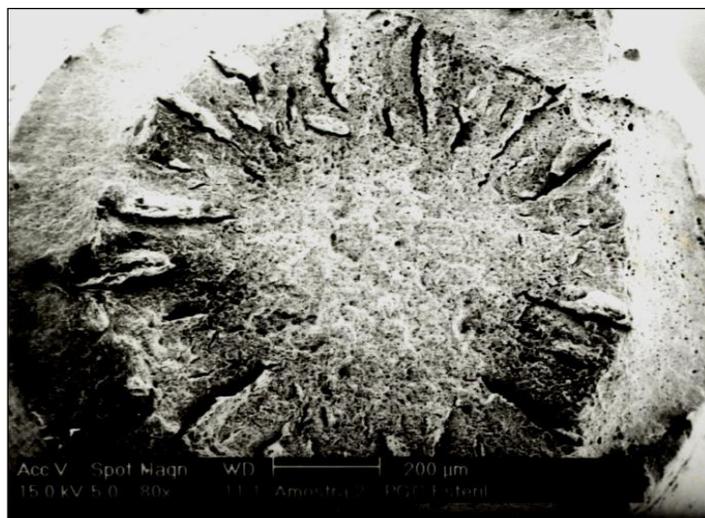


Figura 4.87 – Aparência da fratura do aço SAE 4140 após ensaio de tração BTB em meio PGC estéril.

Nas Figuras 4.88 e 4.89 estão mostradas as fotografias de microscopia eletrônica de varredura realizadas na superfície lateral do corpo de prova após ensaio de tração com BTB, comprovando a colonização de bactérias e também observa-se pites na superfície do metal. A condição do ensaio foi em meio PGC contaminado com BRS (t = 10 dias) com aplicação do potencial de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$ e imersão do corpo de prova durante 24 horas antes de iniciar o ensaio.

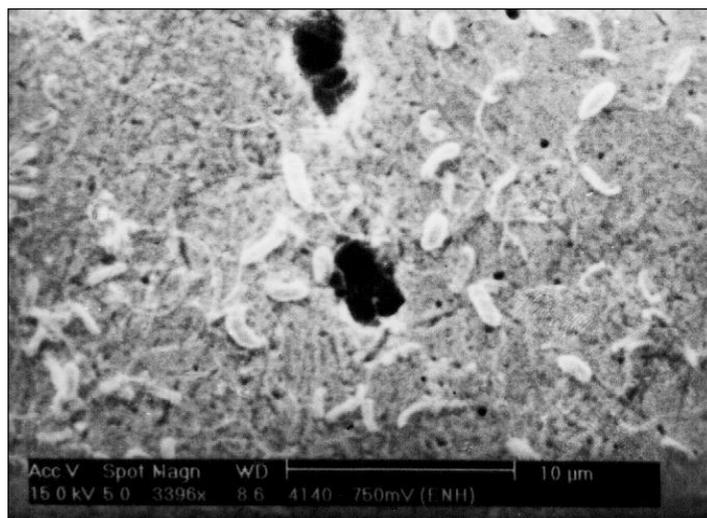


Figura 4.88 – Microscopia eletrônica de varredura realizada na parte útil do corpo de prova, aço SAE 4140, após ensaio de tração BTB. Aplicação do potencial catódico de -750 $mV_{(ENH)}$.

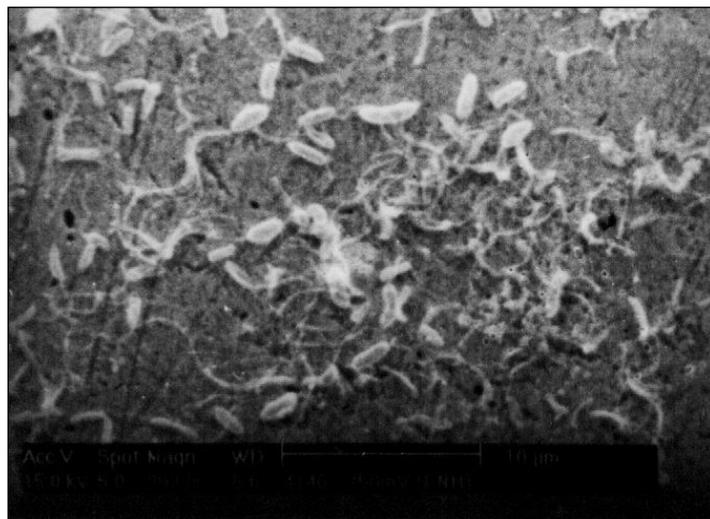


Figura 4.89 – Microscopia eletrônica de varredura realizada na parte útil do corpo de prova, aço SAE 4140, após ensaio de tração BTM. Aplicação do potencial de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Observa-se a colonização de bactérias sobre a superfície metálica.

5 Discussão dos resultados

5.1 Ensaio Preliminar

A análise conjunta com bactérias aeróbicas e anaeróbicas, estas últimas são capazes de utilizar o carbono e capazes de utilizar o carbono como fonte de energia e característica das bactérias anaeróbicas. A presença de BRS (*Pseudomonas* sp, formação de biofilme anaeróbico (carbono). É uma característica das bactérias anaeróbicas, formando consórcios microbianos. As bactérias aeróbicas são importantes porque podem condicionar o meio pelo consumo de oxigênio nas camadas mais externas do biofilme, formando zonas de anaerobiose na interface substrato/biofilme, o que proporciona o desenvolvimento das BRS, principalmente devido à sua anaerobiose obrigatória e sua relativa restrição nutricional (Hamilton, 1985). Esta idéia é reforçada por outros autores, como no trabalho de Cheung e Beech (1996).

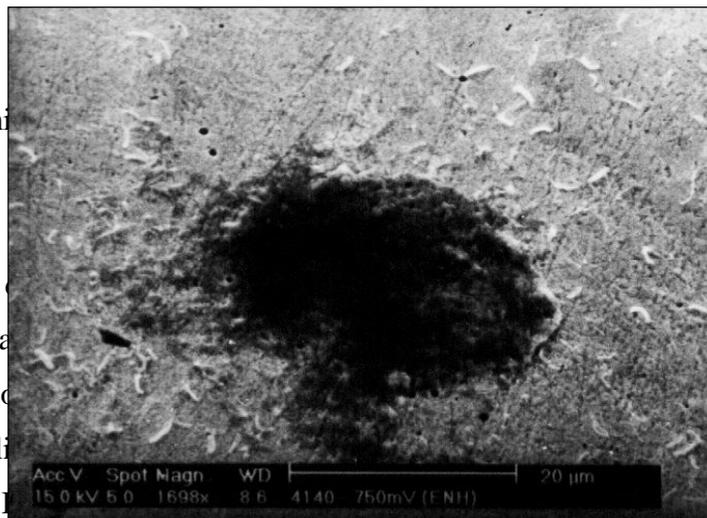


Figura 4.90 – Microscopia eletrônica de varredura realizada na parte útil do corpo de prova, aço SAE 4140, após ensaio de tração BTM. Aplicação do potencial de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Observa-se corrosão localizada e colonização de bactérias

Em relação aos meios biologicamente ativos, que foram a base para a realização dos experimentos deste trabalho, foi encontrado um maior tempo de resposta da formação de FeS

no meio bacteriológico PGC em relação ao meio PGB, o que se atribui, pelo menos em parte, a adaptação dos microrganismos. Nas curvas de crescimento, este intervalo de tempo é chamado fase lag, e representa o tempo de adaptação que as células do inóculo necessitam para iniciar seu crescimento num novo meio. Este resultado é mostrado na Figura 4.3, onde nos primeiros três dias do ensaio de determinação do número mais provável (NMP), não foi observado desenvolvimento dos microrganismos no meio bacteriológico PGC. É evidente que o fator preponderante para obtenção deste resultado foi a composição química diferente dos meios bacteriológicos usados, pois embora sejam semelhantes quanto aos reagentes (Anexo 1) as concentrações destes variam muito, principalmente aos íons ferro (Meio PGB: 1000 ppm e meio PGC 0,80 ppm) e sulfato (Meio PGB: 162 ppm e meio PGC 3064 ppm – Tabela 4.1).

Na curva de crescimento (Figura 4.3), observa-se que no 10º dia o inóculo utilizado neste estudo está na chamada “fase de morte”, caracterizada pelo decréscimo exponencial do número de células viáveis, porém somente após este período de tempo é que pode-se observar a formação de FeS e produção de H₂S fatores imprescindíveis para a realização dos ensaios eletroquímicos.

Embora exista uma grande diversidade de meios onde as bactérias possam ser encontradas, para a realização de ensaios de laboratório são em geral utilizados meios bacteriológicos específicos, como no caso das BRS. As bactérias necessitam, para o seu crescimento, fonte de energia e compostos que fornecem carbono, nitrogênio, enxofre, e pequenas quantidades de íons inorgânicos como K⁺, Mg²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺ ou Fe³⁺, PO₄³⁻, e SO₄²⁻ podem ser usados para síntese de seu material celular (Gerhardt et al., 1981). Os nutrientes necessários para o desenvolvimento de diferentes espécies variam e alguns meios são muito específicos para determinado grupo de bactéria.

Segundo Postgate (1981), o gênero *Desulfovíbrio* apresenta uma grande necessidade de ferro inorgânico. O ferro é necessário para os constituintes celulares como ferredoxina e citocromo c₃. Em culturas com pequenas quantidades de ferro o conteúdo de citocromo c₃ também é menor. Este autor argumenta também que as bactérias *Desulfovíbrio desulfuricans* podem crescer num meio com piruvato sem sulfato.

Então, em meios com sulfato, a precipitação de sulfeto de ferro resulta na diminuição de ferro solúvel que é necessário para o metabolismo das células e pode interferir na taxa de crescimento das células microbianas. Uma diminuição apreciável do ferro pode, pois, atuar tanto no crescimento quanto, no caso deste estudo, dificultar a detecção do desenvolvimento do inóculo.

A relação entre a concentração de ferro no meio bacteriológico de estudo e o crescimento de BRS foi observado por Beech et al. (1995), que estudaram fatores relacionados a diferentes espécies de BRS, entre outros, a atividade metabólica de células plantônicas e sésseis em meio bacteriológico PGC. Os resultados das curvas de crescimento das espécies testadas mostraram uma dependência linear preferencialmente à exponencial com o tempo. Uma explicação para este comportamento poderia ser, segundo os autores, devido ao efeito inibidor do sulfeto, que provoca mudanças no pH. As curvas de crescimento apresentaram modificação do crescimento linear para o exponencial de BRS quando agentes complexantes do ferro, como o EDTA, foram adicionados ao meio, resultando na diminuição da disponibilidade de ferro. Em outra espécie isolada testada no trabalho citado, as taxas de crescimento aumentaram quando houve um aumento na concentração do ferro no meio bacteriológico.

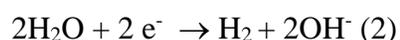
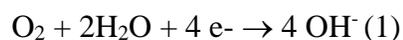
Com base nessas referências, portanto, era esperada a demora em se observar a formação do FeS decorrente do desenvolvimento das BRS no meio PGC, o que efetivamente se confirmou.

O resultado do crescimento nas amostras com microrganismos inoculados em meios com pH modificado mostrou que o consórcio apresentou um desenvolvimento até o pH 12,03. Também nestes ensaios a avaliação do desenvolvimento do inóculo foi baseada na observação da mudança de cor do meio bacteriológico (escurecimento do meio), e quanto mais alcalino o meio, maior foi o tempo para observar o desenvolvimento dos microrganismos. Nos frascos com pH do meio modificado para 9,0 e 10,0 não se observou o escurecimento completo do meio líquido, mas apenas o escurecimento mais acentuado na forma de pontos sobre o precipitado que é característico deste meio bacteriológico.

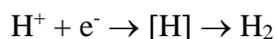
Foram descartados os resultados em que o escurecimento ocorreu imediatamente após a inoculação de amostras retiradas dos ensaios, para acompanhar a viabilidade das células quando se inoculava em meio PGB, porque neste caso ocorreu, provavelmente, a reação do

HS⁻ da alíquota com os íons Fe do meio bacteriológico, com precipitação imediata de FeS, que neste caso não é de origem metabólica.

Com a realização destes ensaios pôde-se comprovar que estes microrganismos podem se adaptar a diferenças ambientais, neste caso, provocadas no meio bacteriológico. A finalidade de modificar o pH foi devido ao aumento da alcalinidade que ocorre, principalmente próximo a superfície metálica, quando aplica-se um potencial catódico, de acordo com as seguintes equações:



A reação 2 pode também ser descrita da seguinte forma:



Segundo Postgate (1981), as BRS necessitam principalmente de um baixo potencial redox para sua multiplicação, restringindo sua atividade a meios redutores e anaeróbicos, e cita que a faixa de pH tolerável é de 5,0 a 9,5. Este gênero de bactérias que inclui grupos terrestres e aquáticos, apresenta facilidade de adaptação quanto à temperatura e salinidade. Devido a esta capacidade de sobrevivência podem ser isoladas de amostras de solos, água do mar, águas de poços artesianos, águas termais, óleo e gás natural, depósitos de enxofre, lodos de estuário e na corrosão do ferro.

Ainda segundo Postgate, as BRS podem se desenvolver no vácuo ou na água sob pressão de 1×10^5 KPa. Cheung et al. (1994) realizaram um estudo para determinar a influência da pressão (testaram 1, 100 e 200 atm) e da temperatura (20, 37 e 50°C) no desenvolvimento de BRS em meio PGC, isoladas de um reservatório de óleo. Neste estudo os autores investigaram a atuação de biocidas (isotiazolona e formaldeído) numa população plantônica de BRS, nas condições de temperatura e pressão anteriormente citadas. Os autores encontraram as mais altas taxas de crescimento bacteriano na temperatura de 37°C e 100 atm.

Lappin-Scott (1994) realizou experimentos com BRS em situações extremas de temperatura e restrição de nutrientes e concluiu que estas bactérias são oportunistas e hábeis

para responder rapidamente a mudanças do meio, fixando-se nas superfícies metálicas principalmente quando estão num estado de baixa atividade metabólica.

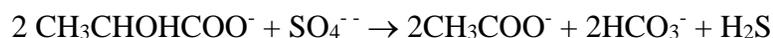
Estes resultados comprovam o que Postgate havia citado em seu trabalho quanto à capacidade de adaptação destes microrganismos em se desenvolverem em diversas condições.

Algumas vezes, embora o crescimento de BRS se inicie num determinado meio, normalmente líquido, alguns aspectos da natureza física e química deste meio podem ser alterados drasticamente, inclusive o pH, pelo próprio metabolismo microbiano. Os sulfetos alcalinos, dissociados em solução podem produzir H_2S livre, bem como íons HS^- e OH^- . Como o H_2S é volátil, neste caso o pH do meio se torna mais alcalino. No entanto, devido ao carbonato e o bicarbonato que são acumulados durante a redução ativa do sulfato, o meio tende a se tornar alcalino, a menos que a compensação da reação metabólica leve à formação de ácido e que isto ocorra simultaneamente, ou exceto que o sulfeto seja aprisionado num composto com metais pesados, por exemplo.

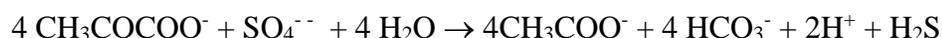
Correspondentemente, no presente trabalho, os ensaios de avaliação do desenvolvimento do inóculo em meios bacteriológicos com pH modificados para valores maiores, mostraram que o tempo de resposta para a observação de mudança da cor pela formação do FeS foi maior que em meios com valores em torno da neutralidade, típicos dos meios bacteriológicos comumente utilizados em ensaios de laboratório.

As análises da concentração de SO_4^{2-} , realizadas pelo método de turbidimetria, mostraram que a concentração diminuiu consideravelmente em função do tempo de inoculação da amostra, isto é, com o desenvolvimento dos microrganismos. Este fato evidencia a redução da concentração de SO_4^{2-} que é utilizado para produção do H_2S através do metabolismo bacteriano. Postgate (1981) cita que as BRS podem alterar o meio em que estão se desenvolvendo de várias formas, e que apresentam uma preferência pela utilização do sulfato. Em águas poluídas, por exemplo, ocorre a remoção de sulfato, que neste caso é consumido pelas BRS antes do material orgânico.

Segundo Karavaiko et al. (1988) as bactérias em geral, podem ser divididas em dois grupos dependendo do tipo de substâncias orgânicas oxidadas que participam do processo de redução de sulfato. O primeiro grupo apresenta o efeito parcial da oxidação de compostos orgânicos, com a formação de acetatos, de acordo com as reações:



$$\Delta G_0 = -159,9 \text{ KJmol}^{-1}$$



$$\Delta G_0 = -341 \text{ KJ mol}^{-1}$$

Os elétrons são normalmente utilizados pelo lactato, piruvato, malato, fumarato, alguns álcoois, como o metanol, butanol, isobutanol, propanol e hidrogênio molecular. Alguns gêneros como *Desulfovíbrio*, podem utilizar alguns açúcares, como glicose, frutose, galactose e ribose no processo de redução. No entanto, em geral o uso de açúcar não é típico do grupo de bactérias redutoras de sulfato.

O crescimento com H_2 é possível na presença de acetato e dióxido de carbono, que são indispensáveis para sintetizar os compostos celulares, segundo a reação:



$$\Delta G_0 = -152,4 \text{ KJ mol}^{-1}$$

Este grupo de bactérias inclui as *Desulfovíbrios*, entre outras.

Postgate (1988) também ressalta a importância do H_2 na fermentação anaeróbica, e que a presença da enzima hidrogenase capacita a maioria das BRS a utilizar este H_2 para a redução do sulfato.

O segundo grupo inclui microrganismos, que aparentemente, possuem o ciclo de Krebs completo, e assim são hábeis para oxidar completamente os compostos orgânicos, incluindo o acetato a dióxido de carbono e a água. Normalmente são bactérias aeróbicas e, portanto, neste grupo não estão presentes as bactérias *Desulfovíbrio vulgaris*, foco deste estudo.

Portanto, os resultados encontrados nas análises realizadas com o inóculo utilizado neste trabalho quanto à diminuição da concentração de SO_4^{2-} e a formação do H_2S que era perceptível pelo odor característico e escurecimento dos meios bacteriológicos, estão de acordo com os resultados encontrados na literatura, bem como a adaptação dos microrganismos às variações de pH no meio bacteriológico.

5.2 Ensaio Eletroquímico

As curvas de polarização potencioestáticas realizadas em meio bacteriológico PGC apresentam diferença marcante dos ensaios realizados nos meios bióticos em relação aos em meios abióticos.

Nos ensaios iniciais, em que foram utilizados eletrodos de platina, tinha-se como objetivo analisar as possíveis reações redox (anódicas e catódicas) do meio. Obteve-se no meio estéril correntes anódicas baixas (em torno de $1\mu\text{A}/\text{cm}^2$), e observou-se o aparecimento de um segundo pico catódico inserido na região anódica da curva, que é devido à redução do O_2 dissolvido. Um aumento importante de corrente anódica somente é observado acima do potencial de $1245\text{ mV}_{(\text{ENH})}$, que é um valor característico de potencial de evolução de oxigênio.

Nos ensaios abióticos, realizados com amostras de ferro, os valores de potenciais de corrosão iniciais ficaram em torno de $84,5\text{ mV}_{(\text{ENH})}$, mas observou-se que o potencial de corrosão do ferro durante o ensaio potencioestático se deslocou para valores mais negativos em torno de $-480\text{ mV}_{(\text{ECS})}$. Na parte anódica da curva observa-se uma pequena tendência de diminuição de corrente (início de pico) em torno de $-50\text{ mV}_{(\text{ENH})}$, observa-se a partir de potencial de corrosão do ferro que há um aumento da corrente anódica e dissolução ativa do metal. Análises do corpo de prova ao final do experimento revelaram uma grande quantidade de pites na superfície exposta do metal.

Nestes ensaios observou-se que o meio PGC estéril apresenta um caráter agressivo ao ferro, pois na sua composição química apresenta íons sulfato e íons cloreto em quantidades apreciáveis (Tabela 4.1) que induzem à corrosão por pites. Em amostras de ferro e aço, íons sulfato são capazes de produzir pites e na presença de cloretos baixam o potencial de pites

para regiões mais negativas em relação ao potencial de corrosão inicial, como foi observado nestes ensaios potencioestáticos (Videla & Salvarezza, 1984).

As curvas de polarização potencioestáticas em que foi utilizado o meio bacteriológico com bactérias pré-crescidas por 10 dias, apresentaram valores do potencial de corrosão inicial mais catódicos em relação aos meios estéreis, em torno de $-958,5 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$ desde o início do ensaio e a partir deste valor iniciou a reação anódica com dissolução ativa do metal, alcançando valores de corrente maiores que as observadas em meios estéreis (valor máximo de corrente $1 \times 10^4 \mu\text{A}/\text{cm}^2$). Em meios bióticos não se observou nenhuma tendência à diminuição de corrente na parte anódica da curva, com a provável formação de um pico, verificada nos meios estéreis com amostras de ferro.

A corrosão anaeróbica do ferro em presença de BRS é objeto de estudo há várias décadas e iniciou com a proposta de von Wolzogen Kuhr e van der Vlugt em 1934, com a teoria da despolarização catódica.

Após a divulgação desta teoria, foram realizadas inúmeras pesquisas envolvendo estes microrganismos em diferentes meios. Dos estudos desenvolvidos, chamam atenção os que relacionam a função da atividade da enzima hidrogenase com a taxa de corrosão dos aços. Fonseca et al. (1996), em revisão bibliográfica, citam que alguns autores como Booth e Wormwell indicaram uma relação direta entre a taxa de corrosão e a atividade da enzima hidrogenase em experimentos estáticos, resultados que não foram confirmados em culturas semi-contínuas. Nestes ensaios semi-contínuos detectaram que mais relevante do que a função da enzima hidrogenase é a característica protetora do filme de sulfeto de ferro formado sobre a superfície metálica; no entanto, quando ocorria o rompimento deste filme resultava em altas taxas de corrosão, sem nenhuma relação com a atividade da enzima hidrogenase.

Hardy (1983), monitorando a respiração de sulfato realizada pelas bactérias, concluiu que a remoção de hidrogênio pelas BRS não é o processo dominante no mecanismo de corrosão anaeróbica do ferro. King e Miller propuseram que o sulfeto de ferro atua como agente despolarizante, baseados em ensaios potencioestáticos catódicos realizados com culturas de BRS que se desenvolveram sem sulfato, que havia sido substituído por fumarato. Esta proposta do desenvolvimento das BRS a partir do fumarato também foi mencionada por Postgate (1981).

Quanto ao filme de sulfeto, pode-se destacar a característica de ser catódico em relação ao ferro (Gentil, 2003), e que a precipitação e a capacidade protetora do filme estão relacionadas com a quantidade de ferro disponível no meio (biótico ou abiótico) (Fonseca et al., 1996). Se a concentração de ferro for pequena, o FeS tenderá a ficar aderido à superfície do metal ocasionando a polarização da área anódica, o que pode retardar o processo de corrosão. No entanto, se a concentração de ferro for elevada, há precipitação de sulfeto de ferro floculento, com característica não aderente, originando um processo corrosivo intenso, relacionado à corrosão por aeração diferencial ou corrosão por frestas.

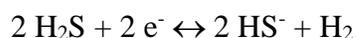
Iverson (2001) cita em seu trabalho que os íons ferro adicionados no meio aumentam a corrosão anaeróbica. Este efeito é devido aos íons ferrosos reagirem primeiramente com o H₂S livre e assim prevenir a formação do filme de sulfeto de ferro. Devido a este fato, quando o FeS precipitar sobre a superfície metálica não terá características aderentes e homogêneas, pois não estará se formando diretamente sobre a superfície metálica.

Devido a estas observações, vários autores questionam a validade da teoria da despolarização catódica que sustenta a participação direta de bactérias redutoras de sulfato na cinética da reação catódica, através da enzima hidrogenase e, baseados em diversos estudos em que foram realizados experimentos eletroquímicos, concluíram que há uma ação conjunta de diversos fatores aliados aos ligados a esta teoria, quais sejam, a formação de material corrosivo, tanto do enxofre quanto ácidos a partir do sulfeto e também a formação de pilhas de aeração diferencial. No caso de ocorrer a quebra do filme de sulfeto de ferro em meios com cloretos, em diversos trabalhos citados na bibliografia, foi observado uma intensa corrosão por pites. Resultados semelhantes foram observados no presente trabalho, nos ensaios de permeação (Figura 4.57), após a realização das curvas de polarização e aos ensaios de tração (Figura 4.87).

Em relação a estas observações, pode-se relacionar a concentração de ferro do meio a sua corrosividade. Através dos resultados dos ensaios realizados neste trabalho, a concentração de ferro pode ser relacionada primeiramente com o desenvolvimento das BRS pela sua influência no metabolismo das células (desenvolvimento dos microrganismos), também como indicador do crescimento bacteriano devido à formação do filme de FeS e ao

tipo de corrosão por pites que foi observada na superfície metálica quando ocorria o rompimento do filme de sulfeto de ferro. É importante salientar que em meios bióticos o filme de sulfeto formava-se juntamente com o biofilme.

Segundo Videla & Salvarezza (1984), as BRS produzem substâncias capazes de atuar como reagentes catódicos. A redução de sulfatos em meio neutro por ação destes microrganismos gera uma mistura de $\text{H}_2\text{S}/\text{HS}^-$. O H_2S pode atuar como reativo catódico, gerando H_2 , segundo a reação:



Neste estudo, após a realização dos ensaios bióticos, observou-se a formação de um filme preto e não homogêneo sobre a superfície metálica, provavelmente de FeS , que também interfere no processo de corrosão, por exemplo, impedindo a formação do H_2 , segundo a reação:



Encontra-se na literatura que estes microrganismos são hábeis para produzir ácidos orgânicos, o que poderia aumentar a concentração de íons H^+ , os quais podem se reduzir a H_2 , o que pode representar um aumento da reação catódica. Na prática, estes mecanismos podem ocorrer de forma simultânea. A agressividade das BRS para o ferro pode ser explicada, tendo-se em conta que, simultaneamente ocorrem os mecanismos de produção de ânions agressivos (HS^-) e de mecanismos que provocam modificações da reação catódica, o que resulta simultaneamente numa diminuição do valor de E_p e um aumento da reação catódica.

Neste caso, os ânions do enxofre atuam sinergisticamente com os íons cloretos facilitando o aparecimento da corrosão por pites.

Um outro fator que certamente contribuiu para as alterações observadas nas reações anódicas e catódicas dos ensaios bióticos em relação aos abióticos nos ensaios potencioestáticos realizados neste trabalho, é a formação do biofilme sobre a superfície metálica, mesmo considerando o intervalo de tempo relativamente curto em que estes ensaios

foram realizados (3 horas). Pode-se relacionar os resultados obtidos aos ensaios realizados para avaliação da aderência de microrganismos a superfícies metálicas (Figuras 4.10 a 4.14). As evidências de bactérias tipo víbrio (BRS) ocorreram após 2 horas de exposição (Figura 4.11) e o FeS foi detectado visualmente após 4 horas de exposição (Figura 4.12). Estes ensaios foram realizados sem aplicação de potencial, porém pode-se observar através das fotografias de microscopia eletrônica de varredura que mesmo em ensaios em que potenciais catódicos de -750 e -1000 mV_(ENH) foram aplicados (Figura 4.24, 4.33 e 4.34), verificava-se a aderência das bactérias, não só BRS; é importante salientar a presença de bactérias aeróbicas no consórcio.

Fonseca et al. (1996) realizaram ensaios de potencial em circuito aberto e observaram a formação do filme de FeS na superfície metálica após 30 minutos de exposição da amostra metálica no meio biótico, e uma taxa de corrosão muito mais elevada em relação aos meios estéreis nos primeiros dias, cerca de 150 %, mas que tendeu a baixar ao longo do tempo devido à formação do biofilme. Segundo os autores, o crescimento das bactérias tem duas conseqüências, quais sejam do decréscimo de SO_4^{--} que é transformado em sulfeto e da acidificação do meio. Estes dois fatores seriam os principais iniciadores da corrosão do aço.

Videla e Salvarezza (1994) realizaram curvas de polarização potencioestática com amostras de aço AISI 1020 em água do mar com BRS em diferentes tempos de inoculação dos microrganismos. Os resultados mostram o efeito das BRS sobre o processo de corrosão do aço, sendo que quanto maior o tempo de inoculação maior a quantidade de sulfetos no meio e nestas condições se observa uma diminuição do potencial de pite do material metálico.

As conclusões destes autores podem ser relacionados com os resultados obtidos neste estudo, tanto no que se refere as diferenças observadas quanto as reações anódicas e catódicas (diminuição do potencial para regiões catódicas, dissolução ativa do metal) em meio com BRS quanto do acompanhamento da concentração de SO_4^{--} pelo método de turbidimetria, em que se constata o consumo de SO_4^{--} em relação ao tempo de inoculação das BRS no meio (Figura 4.9), desta forma sugerindo que há formação do H_2S metabólico usando como reagentes o SO_4^{--} e acetato.

Nos ensaios com aplicação de potencial constante, nota-se que com aplicação do potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$ ocorreu a aderência de bactérias sobre o ferro. Nas microscopias eletrônicas de varredura observa-se o recobrimento da superfície metálica, ficando evidentes alguns pites e marcas da lixa sobre o corpo de prova (Figura 4.24 e 4.25). Através de macrografia (Figura 4.26) pode-se notar que o filme aparece muito irregular sobre a superfície metálica, sendo que se pode notar áreas em que aparece a superfície do ferro e outras completamente recobertas pelo filme de aparência gelatinosa, tipo “patchy”, com “ilhas” de FeS. Com aplicação do potencial de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$, (Figuras 4.31 a 4.37) observa-se uma diminuição da aderência de bactérias. Os ensaios cronoamperométrico bióticos mostram no início do ensaio um decaimento característico de corrente e após oscilações de corrente que podem ser atribuídas à formação do biofilme que induz a corrosão localizada. Devido a estas características tão peculiares da aderência de microrganismos a superfícies metálicas, os resultados dos experimentos diferem entre si, e por isto optou-se por mostrar diferentes resultados de uma mesma condição experimental, embora o procedimento microbiológico tenha sido o mesmo durante a realização dos ensaios.

Resultados semelhantes em relação à corrente desenvolvida no sistema foram obtidos utilizando-se as amostras do aço SAE 4140. Estas observações quanto a aderência de microrganismos ao substrato metálico e subsequente formação do biofilme estão relacionadas com o conceito de biofilme de Characklis et al. (1981), o qual devido a sua formação altera a superfície do metal e favorece a corrosão por pites.

Videla (2000) comenta em seu trabalho sobre a incidência de corrosão localizada em meios bióticos, especialmente na presença de BRS, que o desenvolvimento do biofilme pode alterar física e quimicamente a superfície do aço, o que torna a superfície heterogênea, facilitando o processo de corrosão localizada.

Os experimentos realizados sem a presença de bactérias apresentaram uma rápida diminuição da corrente, que se mantinha constante nestes valores. Estes resultados foram observados tanto para o ferro como para o aço testado e estes metais não apresentavam corrosão significativa no final dos ensaios.

5.3 Ensaios de permeação

Nos ensaios de permeação primeiramente obtinha-se valores de correntes baixas e constantes com o meio bacteriológico PGC estéril, aproximadamente 24 horas, e somente então realizava-se a troca para o meio bacteriológico PGC com BRS pré-crescidas (t=10 dias). Havia um aumento significativo da concentração de hidrogênio (Tabela 4.5 e Figura 4.55) imediatamente após a troca pelo meio inoculado com o consórcio microbiano. Este comportamento ocorreu tanto no ensaio realizado ao potencial de corrosão do ferro bem como nos outros ensaios, em que foram aplicados diferentes potenciais catódicos na membrana metálica.

No ensaio de permeação realizado ao potencial de corrosão (Figura 4.44) observa-se ao longo do tempo uma tendência a diminuição da concentração de hidrogênio, que também foi observada nos experimentos com aplicação de potenciais catódicos (Figuras 4.45 a 4.47 e 4.51 a 4.54). Este decaimento observado pode ser devido ao efeito de bloqueio da superfície metálica causado por uma série de fatores envolvidos neste processo.

Pode-se citar pelo menos três fatores que podem interferir na permeação do hidrogênio: a formação do biofilme, a deposição de calcáreos e a formação do filme de FeS.

O desenvolvimento do biofilme pode ser observado nas Figuras 4.10 a 4.14, e apesar de não serem imagens dos ensaios de permeação, apresentam condições experimentais semelhantes. Nota-se que a aderência de bactérias sobre a superfície metálica pode ser visível após 2 horas de exposição do eletrodo de ferro no meio com BRS. Num ensaio anterior a este, já após 30 minutos de exposição do corpo de prova de ferro no meio, observa-se principalmente uma grande quantidade de produtos de corrosão na superfície, óxidos e hidróxidos de ferro que aparecem como um “filme quebrado” nas fotografias realizadas no microscópio eletrônico de varredura devido ao tratamento de desidratação a que foram submetidos. Como os ensaios de permeação eram de longa duração (mais de 80 horas), neste tempo ocorria, certamente, a formação do biofilme.

Nos ensaios para avaliação da superfície metálica em que a amostra metálica permaneceu por 6 horas de exposição no meio contaminado (Figura 4.13) a superfície do metal aparece completamente recoberta pelo biofilme. Este tempo está de acordo com o resultado do transiente da concentração de hidrogênio, observado nos ensaios de permeação

no potencial de corrosão, que aumenta nas primeiras duas horas do ensaio e depois de 5 horas o valor decai. Neste caso, o efeito bloqueador devido ao recobrimento da superfície com o biofilme e os produtos de corrosão predominam sobre a promoção de hidrogenação causada pela produção metabólica de sulfetos.

O segundo fator bloqueador da passagem de hidrogênio e que pode ocorrer juntamente com a formação do biofilme, é a deposição de calcáreos devido a aplicação de um potencial catódico. Como é aplicado ao metal em meios que contenham íons Ca^{2+} e Mg^{2+} há possibilidade de precipitação de hidróxidos destes metais. (Composição química do meio PGC - Anexo 1).

Alguns trabalhos encontrados na literatura que abordam o tema da deposição de calcáreos e permeação do hidrogênio não levam em consideração a interação deste filme com microrganismos, embora o meio marinho seja aquele em que mais é utilizado a proteção catódica como método de proteção metálica (e este meio apresenta uma grande quantidade de micro e macrorganismos).

No trabalho realizado por Kimura et al. (1988) foram avaliados diversos fatores relacionados à permeação de hidrogênio em aços do tipo API X70 e API X46 em meios abióticos: água do mar sintética e solução de 5% de NaCl. Os autores fazem referência à importância da composição do meio na permeação do hidrogênio, e concluíram que a composição das soluções em que são realizadas as medidas podem interferir nos resultados da taxa de permeação do hidrogênio, principalmente quando íons Ca^{2+} e Mg^{2+} estão presentes, sem citar no entanto, qual o tipo de composto formado por estes íons. Nestas condições foram obtidas menores correntes de permeação do hidrogênio. Segundo os autores, além dos íons Ca^{2+} e Mg^{2+} , outro fator importante é o valor do pH, sendo que em soluções de pH neutro, em torno de 8,2 a permeação foi menor do que em pH mais ácidos (valores de 5.7 a 3.0). Segundo Guezennec (1994), isto ocorre devido à dissolução dos depósitos de calcáreos em meios ácidos.

Em outro estudo, Ou e Wu (1997) investigaram o efeito de depósitos calcáreos na absorção do hidrogênio em aços de baixo carbono, em água do mar sintética; este trabalho foi realizado em meios abióticos. Os autores citam que os principais fatores, além do valor do potencial catódico impresso, que influenciam a deposição de calcáreos, são a corrente,

tempo, pressão, temperatura, composição química do meio e condições da superfície. Os depósitos formados em água do mar na proteção catódica detectados foram CaCO_3 e Mg(OH)_2 , que são considerados depósitos benéficos, pois diminuem a corrente requerida para proteção catódica e protegem os ânodos de sacrifício. Neste trabalho foi utilizada a técnica de permeação em função da densidade de corrente catódica aplicada, para avaliar os efeitos dos íons de Ca^{2+} , Mg^{2+} e HCO_3^- nos depósitos calcáreos em água do mar. Os autores concluíram que a taxa de permeação é influenciada pela formação de calcáreos, principalmente CaCO_3 e Mg(OH)_2 , detectados por difração de RX. O mecanismo de precipitação de compostos inorgânicos em água do mar deve-se ao aumento de pH do eletrólito adjacente à superfície do metal, aumento de íons carbonato e precipitação de depósitos calcáreos. Os resultados do trabalho de Ou e Wu (1997) mostram que quanto maior a corrente aplicada maiores foram as taxas de permeação encontradas nas soluções testadas.

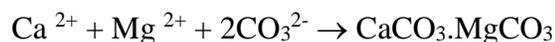
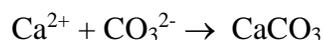
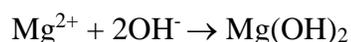
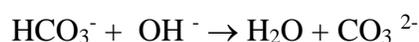
Da mesma forma, no presente trabalho, também observou-se que ocorria um aumento da concentração de H com o aumento da polarização, sendo que a maior variação ocorreu com a aplicação de $-1500 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$ (Figura 4.55). Além da polarização, outro fator que parece ter contribuído para esta variação foi a quantidade de H_2S (HS^- , S^{2-}) produzida metabolicamente, durante o tempo de incubação dos microrganismos.

Nos ensaios de permeação realizados neste estudo com o consórcio microbiano, a formação do biofilme certamente foi influenciada pela deposição de cátions provenientes do meio bacteriológico PGC, estabelecendo-se uma relação de competição para a formação destes dois filmes.

Alguns autores concordam que em meios que contenham microrganismos os valores de potencial catódico que normalmente são utilizados para proteger as estruturas de aço, não são eficientes para impedir a aderência de microrganismos, como Guezennec (1994), que realizou um trabalho com a finalidade de determinar a relação entre a polarização catódica e o desenvolvimento de biofilmes nas superfícies metálicas expostas a água do mar sintética e natural em diferentes situações: superfícies metálicas na presença e ausência de biofilme, com culturas puras e mistas. Os resultados mostraram que em sedimentos marinhos a

produção de hidrogênio catódico aumentou o crescimento de BRS contendo a enzima hidrogenase, enquanto que em água do mar aerada a formação dos biofilmes competia com a deposição de cálcio e magnésio. O pH baixo afetou tanto o metabolismo bacteriano e o processo de deposição dos biopolímeros quanto a estabilidade dos depósitos de calcáreo.

Segundo o autor, as equações (1) e (2) mostram o aumento na alcalinidade e mudam o equilíbrio do sistema de CO₂ na interface aço/solução, causando à formação de CO₃²⁻, levando com isto à precipitação de carbonato de cálcio e hidróxido de magnésio nas superfícies catodicamente protegidas, segundo as equações:



Em água do mar natural, um dos aspectos da deposição de calcáreos é que estes podem se transformar em barreiras físicas para a corrosão generalizada, reduzindo o fluxo de oxigênio dissolvido do seio da solução para a superfície do metal, reduzindo a densidade de corrente requerida para manter um dado potencial, e conseqüentemente decrescer o custo da proteção catódica.

Nas Figuras 4.24 a 4.26 e 4.33 a 4.36 chama atenção a aderência de bactérias com aplicação de potenciais catódicos de -750 e -1000 mV_(ENH), porque se esperava que estas amostras estivessem protegidas pelo potencial aplicado. Observou-se que com o potencial de -1000 mV_(ENH) ocorreu uma diminuição das células bacterianas aderidas à superfície e uma provável formação de calcáreo pode ser vista após 8 dias de polarização da membrana metálica de ferro (Figura 4.50); nestes ensaios a taxa de permeação diminuía com o tempo, e o aumento da formação de calcáreo foi visualmente mais importante do que a aderência de bactérias na superfície.

Nos ensaios realizados por Guezennec (1994) com aço polarizado catodicamente em -800 e -900 mV_(Ag,AgCl) primeiramente decresceu a demanda de corrente catódica devido à formação de um depósito homogêneo de calcáreo, e não foi detectado inicialmente corrosão

nos corpos de prova. Nos potenciais de -800 e -900 $mV_{(Ag,AgCl)}$ grande quantidade de sulfeto de ferro foi encontrada na superfície. Este sulfeto de ferro também foi encontrado em amostras protegidas abaixo de -1000 $mV_{(Ag,AgCl)}$ no final de 3 meses de experimento. Depois de removida a polarização catódica, altas taxas de corrosão foram determinadas nos corpos de prova de aço carbono com -1000 $mV_{(Ag,AgCl)}$ aplicado. Segundo o autor, a produção de hidrogênio catódico pode modificar a comunidade bacteriana e promover o crescimento de BRS em sedimentos vizinhos, levando ao aumento da demanda da corrente catódica necessária para proteção do metal.

Como os ensaios neste trabalho tiveram um período mais curto, não se observou a diferença de perda de massa, porém a corrosão tipo pite estava presente nas amostras de ferro, com ou sem a aplicação de potencial catódico (Figura 4.57).

Através destes resultados observou-se que o aumento da alcalinidade proveniente da polarização influencia o crescimento das bactérias, porém não inviabiliza o desenvolvimento do consórcio microbiano. Após um determinado tempo pode ocorrer a adaptação dos microrganismos envolvidos, como foi observado nos ensaios descritos no item 4.3 (Figuras 4.4 a 4.8), bem como nos ensaios em que foi aplicado o potencial catódico de -750 $mV_{(ENH)}$ e que ocorreu a aderência dos microrganismos. Diferente da situação em que foi aplicado -1000 $mV_{(ENH)}$, que pela modificação mais efetiva do pH, facilitou a formação de precipitados sobre a superfície do ferro e com isto observou-se a diminuição da aderência de células bacterianas. Observou-se visualmente o filme de sulfeto de ferro nos ensaios realizados ao potencial de corrosão até a aplicação de -1200 $mV_{(ENH)}$.

Nos ensaios realizados com as bactérias crescendo no meio, observou-se o odor característico e a formação do filme de sulfeto de ferro mesmo com aplicação do potencial de -1500 $mV_{(ENH)}$, Figura 4.64. Talvez, o fato de os microrganismos estarem se desenvolvendo juntamente com a polarização catódica, tornou-os menos suscetíveis às mudanças que ocorrem na interface solução/metal.

Guezennec (1994), concluiu que a polarização catódica não influencia significativamente a colonização de bactérias, embora a polarização influencie em muitos aspectos, entre eles

a carga da superfície, a superfície condicionante que antecede a fixação das bactérias. Nos ensaios em que foram aplicadas densidade de corrente de $50 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ou o potencial catódico de $-950 \text{ mV}_{(\text{ECS})}$ o autor observou que estas condições não afetaram a fixação das bactérias nas superfícies metálicas estudadas. E, se a superfície está previamente colonizada, o mesmo potencial não é suficiente para remover as bactérias do biofilme pré-existente.

Conclui-se que apesar de a proteção catódica ser um método conhecido de proteção metálica, a formação do biofilme pode interferir na eficiência da proteção pela colonização da superfície.

Maxwell (1986) estudou o efeito da aplicação de potencial catódico de $-950 \text{ mV}_{(\text{Cu}:\text{CuSO}_4)}$ na atividade do biofilme formado e a produção de sulfeto no biofilme em amostras de aço carbono 50D. Não comenta sobre a formação de calcários, apenas na detecção da ocorrência de bactérias nas amostras analisadas, embora as amostras metálicas protegidas e não protegidas estivessem expostas em água de estuário, meio que propicia a formação das estruturas calcárias. O autor observou que o biofilme se desenvolveu tanto nos substratos protegidos quanto nos não protegidos catodicamente, porém a atividade das bactérias (aeróbias e anaeróbias) foram maiores nas amostras de aço sem aplicação do potencial catódico, como era de se esperar. O sulfeto foi detectado somente nos corpos de prova não protegidos, porque o potencial das amostras protegidas está mais negativo do que das amostras que estão no potencial de corrosão. O autor concluiu que a polarização catódica de $-950 \text{ mV}_{(\text{Cu}:\text{CuSO}_4)}$ não preveniu o desenvolvimento de uma população ativa sobre uma superfície protegida e que o potencial catódico não inibe a atividade de BRS diretamente, porque quando foi colocado uma fonte de carbono adicional, a atividade dos dois biofilmes (protegidos e não protegidos) aumentou consideravelmente. Segundo o autor, o aço que é protegido catodicamente apresenta uma superfície que pode ser considerada inerte em vários aspectos. No entanto, no aço em que não é aplicado nenhum potencial, a dissolução do ferro cria uma superfície modificada, que propicia áreas para a fixação de bactérias, principalmente pela formação de zonas de anaerobiose. No material metálico corroído, a presença dos íons ferro pode contribuir para a

formação de sulfetos e aumentar as zonas de anaerobiose no biofilme. O autor conclui que o aumento do pH devido à polarização, é o fator que pode ter algum efeito inibitório na formação do biofilme.

Dexter e Lin (1992) investigaram os filmes de bactérias marinhas formados sobre a superfície de aço inoxidável e as interações entre estes filmes e os depósitos de calcáreos em função da densidade de corrente aplicada. O objetivo desse trabalho foi o de estudar como o biofilme pré-existente atua na formação dos calcáreos e no comportamento eletroquímico da superfície do metal sob condições de polarização catódica. Os autores concluíram que o sinergismo que ocorre entre o filme de calcáreo e bactérias atua como uma barreira difusional benéfica em altas densidades de corrente, mas o filme atua como um despolarizador catódico aumentando a necessidade de corrente para proteção a baixas densidades de corrente. Os autores citam dois efeitos do biofilme na polarização catódica: o primeiro é do biofilme nas propriedades eletroquímicas no metal nu. Isto influencia a quantidade de corrente aplicada requerida para manter a estrutura num potencial eletroquímico necessário para proteção, e o biofilme tem a capacidade de mudar a reação catódica na superfície passiva do metal. A ação do biofilme muda a termodinâmica e a cinética da reação catódica de redução do oxigênio. Assim, aumenta (torna mais nobre) o potencial de corrosão de circuito aberto e muda a curva de polarização catódica para potenciais e correntes mais altos. A principal consequência da proteção catódica é um aumento da densidade de corrente necessária para polarizar o metal para o potencial de proteção. O segundo é efeito do biofilme na deposição de calcáreos em superfícies protegidas catodicamente. Os minerais que estão presentes na água do mar juntamente com o alto pH na interface da superfície metálica propiciam a formação de depósitos de calcáreos. Observaram que potencial das amostras nuas e os com biofilmes se tornam mais negativos com o aumento da densidade de corrente aplicada, como era de se esperar. A influência do biofilme tornar o potencial do eletrodo com o biofilme mais negativo do que do eletrodo nu. O efeito é mais pronunciado depois de 2 horas de imersão. A aplicação de alta corrente não remove os microrganismos ou muda o modelo de distribuição generalizada nestas condições experimentais, entretanto pode ter modificado o metabolismo e a viabilidade das células. Segundo os autores, as amostras com o pré-biofilme são mais negativas devido à mudança na distribuição da deposição de calcáreo. Nas amostras que

tinham um biofilme pré-desenvolvido em meio natural, observaram que as bactérias não foram removidas da superfície metálica pela aplicação de corrente.

Então o principal efeito da proteção catódica é aumentar o pH muito próximo da superfície que com isto resulta na diminuição da aderência de bactérias sobre as superfícies metálicas.

O terceiro fator que pode atuar como efeito bloqueador nos ensaios de permeação é a formação do filme de sulfeto de ferro, que foi observado mesmo com a aplicação de potenciais catódicos abaixo de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. Porém, observou-se que quanto mais catódico o potencial aplicado menor era a formação do filme de FeS na superfície metálica. Nas amostras dos ensaios de permeação a formação do FeS ocorria em regiões delimitadas do corpo de prova, normalmente na parte central da amostra (Figura 4.26). Embora seja termodinamicamente instável o FeS num potencial abaixo de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$, observou-se o aparecimento de pequenas “ilhas” de FeS nos ensaios em que foi aplicado potencial catódico de $-750 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$. A Figura 4.26 retrata bem esta observação, onde se identifica em pontos determinados o FeS incrustado no filme que contém as bactérias. Nos ensaios de permeação observava-se, que naqueles ensaios em que as bactérias se desenvolviam, o filme aparecia e quanto mais próximo do potencial de corrosão mais espesso era o filme de FeS. Porém, mesmo em potenciais muito catódicos observava-se o filme, mesmo que em proporções menores.

A estabilidade dos sulfetos de ferro depende de algumas condições como a disponibilidade de oxigênio, concentração de enxofre, composição do meio eletrolítico aquoso e dos mecanismos de atividade biológica. Anderko e Schuler (1997) desenvolveram um programa computacional para gerar diagramas de estabilidade que combinam os princípios dos diagramas de Pourbaix com o modelo termodinâmico para soluções reais. Os diagramas de estabilidade são usados para prever as condições que favorecem a estabilidade de várias espécies de sulfeto de ferro, estáveis e metaestáveis. Nestes diagramas, abaixo de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$ e nos valores de pH entre 0 e 14, somente foram detectadas as espécies de $\text{Fe}_{(\text{s})}$ e $\text{Fe}(\text{OH})_3$, para tanto foram fixados os potenciais de

-1 a 1 V, porque segundo estes autores nas condições em que foram realizados os ensaios, não existe variação das espécies abaixo e acima destes potenciais.

Os resultados de Kimura et al. (1988) também indicam a importante participação do filme de FeS relacionando a estabilização deste filme com a taxa de permeação, ou seja, quando a superfície foi recoberta pelo filme a taxa de permeação diminuiu.

Guezennec também encontrou sulfeto de ferro em amostras protegidas no potencial de $-950 \text{ mV}_{(\text{ECS})}$ e levantou a hipótese de que o hidrogênio produzido catodicamente promove o crescimento de BRS, o que resulta na formação de sulfeto de ferro na superfície metálica. O sulfeto de ferro pode se formar juntamente com os precipitados. Guezennec explica este fato salientando que o sulfeto de ferro é catódico em relação ao aço e pode reagir com o oxigênio, quando disponível, produzindo hidróxidos de ferro que também são catódicos em relação ao aço. Assim, o hidrogênio produzido catodicamente pode promover o crescimento destes microrganismos em sedimentos marinhos ou em condições anaeróbicas.

Maxwell (1986) atribui a formação de produtos de corrosão de sulfetos em aços protegidos a $-950 \text{ mV}_{(\text{Cu:CuSO}_4)}$ ao desenvolvimento do biofilme que mesmo muito tênue poderá restringir a difusão de gases para a superfície do metal. Restringindo a difusão de oxigênio poderá formar zonas de anaerobiose nas quais as BRS são ativas. A produção de sulfeto poderá se formar muito próxima à superfície e eventualmente causando extensos depósitos de sulfetos que tem sido observados.

Com referência aos experimentos realizados neste trabalho, como pode ser observado na Figura 4.63 a aplicação do potencial de $-1400 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$ favoreceu a formação de filme de hidróxidos e que também se observava o sulfeto de ferro em algumas regiões, porém sob o filme foram detectadas células bacterianas, provavelmente numa região em que as condições de anaerobiose eram mais favoráveis para o desenvolvimento destes microrganismos.

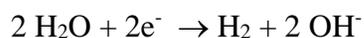
5.3.1 Ensaio de Permeação Inoculados Diretamente na Célula Eletroquímica

Nos ensaios de permeação realizados com a colocação do pré-inóculo diretamente na célula de permeação observou-se, no experimento realizado ao potencial de corrosão, um aumento inicial da concentração de hidrogênio. Este resultado é similar aos ensaios com as bactérias pré-crescidas, porém com uma concentração menor de hidrogênio, porque o volume das soluções utilizadas nos dois ensaios foi diferente; com bactérias pré crescidas utilizou-se 300 mL de meio PGC + 10 mL de meio PGB, e no pré inóculo apenas 10 mL de meio PGB. Resultados semelhantes de aumento da concentração inicial de hidrogênio e posterior diminuição da concentração de hidrogênio foram obtidos com aplicação de -700 e -800 $mV_{(ENH)}$. A diminuição da concentração de hidrogênio nestes ensaios foi semelhante aos obtidos com os meios bacteriológicos PGC com bactérias pré-crescidas ($t = 10$ dias). Nestes ensaios com a colocação do pré-inóculo observou-se o desenvolvimento dos microrganismos e as mesmas características do meio bacteriológico dos ensaios anteriores com a bactérias pré-crescidas, entre eles o odor característico de H_2S , a adesão das células bacterianas na superfície metálica bem como a formação do filme de FeS , e assim pode-se atribuir a estes ensaios as mesmas considerações feitas para os ensaios com bactérias pré- crescidas anteriormente citados.

No entanto, nos ensaios em que foram aplicados os potenciais catódicos de -1000 , -1200 e -1400 $mV_{(ENH)}$ observou-se um comportamento diferente em relação aos ensaios com bactérias pré-crescidas quanto à concentração de hidrogênio. No ensaio com aplicação de -1000 $mV_{(ENH)}$, os microrganismos se desenvolveram durante o ensaio, porém com muita contaminação e nota-se um aumento constante da concentração de hidrogênio até em torno de 90 horas de realização do ensaio com uma leve tendência para diminuição da concentração de hidrogênio após 150 horas. Nos ensaios que foram realizados com aplicação dos potenciais de -1200 e -1400 $mV_{(ENH)}$ os microrganismos não se desenvolveram e, portanto não se observou o escurecimento característico do meio bacteriológico e no final do experimento não foram observadas células viáveis. Nestes ensaios ocorreu um aumento linear da concentração de hidrogênio em função do tempo de duração do ensaio.

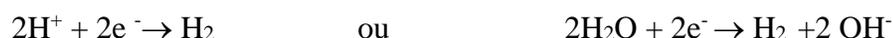
Nestes ensaios, o pH do meio foi aumentando gradativamente até alcançar valores em torno de 13,0 na solução que estava na célula de permeação do lado catódico (meio bacteriológico).

O aumento da concentração de hidrogênio pode estar relacionado as reações que podem ocorrer na área catódica quando está aplicado um potencial em meio não aerado:



Neste caso, pode ocorrer a liberação de íons H^+ e o excesso de hidroxila pode atacar o ferro.

Segundo Gentil (2003) (citando Pourbaix,1996) o ferro em presença de soluções aquosas isentas de oxigênio ou de outros oxidantes, apresenta um potencial abaixo da linha que representa a condição de equilíbrio das reações eletroquímicas:



que possibilita o desprendimento de hidrogênio. A pH ácidos e a pH fortemente alcalinos, o ferro se corrói com redução de H^+ e a reação será tão mais violenta quanto mais ácida ou mais alcalina for a solução. Ao pH compreendido entre 9,5 e 12,5, o ferro tende a se transformar em Fe_3O_4 com desprendimento de hidrogênio.

Segundo Flis et al. (1999), o ferro e o aço são usados como cátodos em soluções alcalinas porque apresentam razoável atividade catalítica para a reação de evolução de hidrogênio, entretanto sua estabilidade é baixa. Esta liberação de íons hidrogênio provoca a entrada do hidrogênio no metal que inicialmente aumenta e posteriormente decresce com o tempo, resultando na desintegração do metal. Os resultados mostraram que o aumento da taxa de entrada de hidrogênio foi associada principalmente com o recobrimento da superfície pelo hidrogênio, que acontece pelo fortalecimento da ligação metal-H e/ou da exposição do metal descoberto (nu).

Iyer et al. (1989) utilizaram-se de dados existentes na literatura referentes a taxa de permeação no ferro e no níquel em soluções ácidas/alcalinas e concluíram que o aumento da

polarização catódica aumenta o recobrimento de hidrogênio na superfície do ferro (Ferrovac E) em soluções com o pH 13.

Um outro fator que pode ter interferido no desenvolvimento dos microrganismos, especificamente com a aplicação dos potenciais catódicos anteriormente citados, é a formação de hipoclorito de sódio no contra eletrodo. Segundo Englert e Biazzi (2003) que está realizando um estudo da ação de biocidas em culturas com BRS, o hipoclorito de sódio, que pode se formar com a aplicação de potenciais anódicos, pode agir como um potente biocida para as BRS e outras espécies. Videla (2000) também cita o cloro e seus compostos, como um dos principais biocidas para este gênero de bactérias. Nos experimentos de permeação eletroquímica realizadas neste estudo, o contra eletrodo utilizado, fio de platina, estava separado da célula de permeação como pode-se observar na Figura 3.1, porém poderia haver a difusão do composto formado no recipiente onde estava o contra eletrodo para o meio onde estavam os microrganismos através da mangueira de borracha que servia para fazer o contato entre os dois compartimentos que utilizavam a mesma solução. Neste caso, os potenciais catódicos aplicados poderiam favorecer a formação de um composto nocivo para as bactérias.

No ensaio de permeação eletroquímica com aplicação do potencial catódico de $-1500 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$, embora se observe uma concentração de hidrogênio oscilante, os microrganismos se desenvolveram e o pH do meio ficou em torno de 9,0. Porém, neste ensaio novamente não se observa a característica da diminuição da concentração de hidrogênio ao longo do tempo semelhante aos ensaios com bactérias pré-crescidas. O aumento de hidrogênio proveniente da polarização catódica pode favorecer a formação de zonas de anaerobiose, que por sua vez cria condições para o desenvolvimento de micro-meios em que as BRS podem se desenvolver. Neste ensaio não se nota o desenvolvimento do biofilme, porém se observa a superfície do ferro recoberta por filmes, provavelmente de óxidos ou hidróxidos, formados durante a polarização catódica (Figura 4.65 a 4.67).

5.4 Ensaios de Baixa Taxa de Deformação

Neste trabalho utilizou-se a técnica da baixa taxa de deformação (BTD) em meios bióticos e abióticos com a finalidade de comparar aos resultados obtidos principalmente quanto a influência dos produtos do metabolismo dos microrganismos na fragilização pelo hidrogênio nas amostras do aço SAE 4140.

Os corpos de prova ensaiados ao ar, em óleo mineral e em meio bacteriológico PGC estéril apresentaram fratura dúctil como pode ser observado através das Figuras 4.72, 4.74 e 4.75, porém em meios com bactérias tanto com a adição do pré-inóculo, colocado diretamente na célula de tração, quanto com o meio bacteriológico com as bactérias pré- crescidas (t = 10 dias) observa-se uma nítida mudança de fratura dúctil para frágil (Figura 4.78, 4.81, 4.84 e 4.85).

Esta mudança observada claramente nos corpos de prova, não se traduziu em alterações muito significativas dos gráficos de tensão x deformação, os quais apresentam valores de deformação semelhantes em ambos os casos (Figuras 4.69, 4.71). As diferenças observadas quanto a característica da fratura neste trabalho estão claramente associadas ao meio corrosivo e não foram investigados os parâmetros metalúrgicos e as propriedades do metal como inclusões, segregações e influência das impurezas (S, P).

Segundo Neumann (1994), durante a fratura, os átomos que estão quimicamente ligados são separados por uma força mecânica suficientemente forte. A fratura pode ser considerada, em alguns casos, de uma forma mecânica-química, isto é, a ação mecânica atuando sobre as forças presentes nas ligações químicas. Neste caso se o meio em que está o corpo de prova contém moléculas reativas influenciará sobremaneira no tipo de fratura, como observado nos ensaios realizados com o meio contaminado por BRS.

Como a fragilização depende da quantidade de hidrogênio que permeia o metal, esperava-se resultados diferenciados dos meios bióticos em relação aos meios abióticos, devido à maior concentração de hidrogênio que foi observado nos ensaios de permeação com meios biologicamente ativos, principalmente nas propriedades mecânicas do aço como a diminuição da ductilidade, o que realmente se comprovou. Observou-se o aparecimento de trincas perpendiculares a tensão aplicada, que podem ser observadas nas Figuras 4.78, 4.81 e 4.84. Estas trincas somente foram observadas nos ensaios bióticos, tanto com aplicação de

potencial catódico de -750 e -1000 mV_(ENH), quanto nos ensaios realizados ao potencial de corrosão. Em alguns ensaios (Figura 4.84 e 4.85) o corpo de prova permaneceu por 24 horas em imersão, antes da tração, para favorecer a entrada de hidrogênio no metal antes de iniciar o ensaio de tração, no entanto, não se observou diferenças significativas quanto a fragilização pelo hidrogênio nestes ensaios.

Na superfície dos corpos de prova de tração observou-se nas fotografias de microscopia eletrônica de varredura um número considerável de células microbianas aderidas, porém não pode-se denominar de biofilme o tênue “filme” que se observa (Figuras 4.87, 4.88 e 4.89) já que geralmente o termo biofilme é utilizado para designar uma estrutura mais complexa. Nestes ensaios nota-se pequenos pites e assim como nos ensaios cronoamperométrico, a aplicação de potenciais catódicos de -750 e -1000 mV_(ENH) não impediu a colonização da superfície do aço. Porém, nos ensaios de baixa taxa de deformação não se observou a formação de depósitos sobre a superfície metálica, que neste caso poderiam diminuir a entrada do hidrogênio para dentro do metal diminuindo assim a fragilização do aço. Um dos fatores que pode ter influenciado para que os depósitos de óxidos e hidróxidos não tenham sido observados é que os potenciais aplicados (-750 e -1000 mV_(ENH)) não foram suficientemente catódicos para favorecer a precipitação dos cátions, bem como o fato do tempo de realização dos ensaios ser menor do que o dos ensaios de permeação de hidrogênio. Porém o filme preto provavelmente de FeS foi detectado (visualmente) após a realização dos ensaios.

Na literatura não se encontra muitos trabalhos que abordem a influência de BRS em ensaios de tração especificamente, porém alguns aspectos têm sido discutidos em relação a ensaios de permeação influenciando a fragilização e fadiga de estruturas “off shore”. Benson e Edyvean (1995), por exemplo, realizaram um estudo comparativo entre a ação de sulfeto de hidrogênio (H₂S) biótico produzido pelas BRS quando as condições no biofilme se tornam favoráveis para o crescimento anaeróbico e meios de sulfeto de hidrogênio abiótico, que foi produzido com Na₂S.9H₂O, sobre os resultados dos ensaios de permeação em aço BS4360 50D. Os resultados dos ensaios mostram que embora os níveis de H₂S formado pela cultura de bactéria (99 ppm) seja similar ao gerado quimicamente (122 ppm) o ensaio com a cultura de bactéria apresenta uma corrente de permeação de hidrogênio

maior que o ensaio abiótico, isto é, o H₂S produzido biologicamente tem maior efeito do que o produzido artificialmente, e que mesmo pequenos níveis de hidrogênio em meios bióticos podem causar a fragilização do metal. Também observaram a formação do filme de sulfeto de ferro produzido no biofilme, com aplicação de $-1000 \text{ mV}_{(\text{ENH})}$, e que poderia ter um considerável efeito na susceptibilidade do aço. Segundo os autores, quando o aço está exposto ao meio com H₂S abiótico a taxa de permeação do hidrogênio foi maior do que em meios bióticos, devido à produção de H₂S pelas bactérias redutoras de sulfato próximo à superfície metálica. Os resultados deste trabalho mostraram que o H₂S biótico promove a entrada de hidrogênio no aço que promove a fragilização do material.

Em contraste, Thomas et al. (1988) encontraram que a taxa de corrosão-fadiga foi maior em soluções abióticas com H₂S, em água do mar natural em diferentes temperaturas e concentrações de H₂S, utilizando amostras de aços microligados utilizados em estruturas “off-shore”. O meio biologicamente ativo foi criado a partir da decomposição de algas marinhas em água do mar natural adicionando posteriormente uma cultura ativa de BRS. O mecanismo de corrosão-fadiga em soluções salinas contendo H₂S segundo os autores se inicia pela fragilização pelo hidrogênio, isto é, pela entrada do hidrogênio atômico no metal. Estas condições são particularmente agressivas como resultado de uma alta concentração de hidrogênio atômico na trinca, que é consequência da presença de espécies HS⁻ e S²⁻ que interferem na reação de recombinação de hidrogênio, e assim disponibilizando mais hidrogênio atômico para entrar no metal. Segundo os autores, a concentração de hidrogênio diminui em alguns ensaios, principalmente aqueles com um tempo maior de exposição da amostra metálica ao meio, devido à formação de uma barreira de compostos orgânicos que atua como uma barreira para a fragilização. Esta proposição foi comprovada pela menor velocidade de crescimento das trincas em meios biologicamente ativos comparados com os abióticos.

Em outro trabalho, Thomas et al. (1987) estudaram a influência de diferentes concentrações de H₂S nos mesmos aços e meios citados no trabalho anterior. O objetivo de testar diferentes concentrações de H₂S é porque dependendo das condições do meio, os níveis de H₂S produzido pelas BRS podem variar, alcançando valores até 2000 ppm em ótimas condições experimentais, enquanto que em água do mar, em locais de anaerobiose (tanques de estocagem), foram detectados níveis entre 15 e 100 ppm. As taxas de H₂S geradas eram

influenciados pela temperatura em que as culturas foram mantidas. As culturas que estavam na temperatura em torno de 30 °C apresentaram maiores níveis de H₂S (> 1000 ppm) em relação às culturas mantidas em temperaturas em torno de 5°C (500 ppm). Foram testadas diferentes concentrações de H₂S gerado pelas bactérias e, para comparação, nos ensaios abióticos foi injetado o gás. Os resultados são compatíveis com os do trabalho anterior e, segundo os autores, indicam que o biofilme produzido pelas bactérias pode atuar como uma barreira impedindo o transporte de hidrogênio para o interior do metal, isto porque os ensaios de fadiga realizados indicaram que em meios abióticos as taxas de crescimento das trincas também foram menores que em meios bióticos. Aliado a este fator, os sulfetos gerados pelas BRS podem permanecer aprisionados no biofilme e não dispersos na solução, ao contrário dos meios abióticos, em que todo o H₂S adicionado artificialmente está disponível para atuar no processo de fragilização.

Estes resultados mostram a influência do meio nos processos biológicos que podem alterar o processo de corrosão, principalmente quando há formação de filmes sobre a superfície metálica.

Na fragilização do aço SAE 4140 observada nos ensaios do presente trabalho a influência das BRS pode estar relacionado a diferentes fatores.

Um primeiro fator é a aderência de células de bactérias sobre a superfície do aço, com característica similares da etapa inicial de formação dos biofilmes, já observados nos demais ensaios (item 4.5), colonizando aleatoriamente a superfície de forma a gerar células de aeração diferencial. Este fato pode ocorrer tanto ao potencial de corrosão, como com aplicação de potenciais catódicos, como foi observado.

A aderência de bactérias e o filme de FeS formado sobre a superfície metálica podem dar origem a corrosão por pites e a corrosão por fresta. Os pites são heterogeneidades superficiais que favorecem o início da trinca quando o material está tracionado. Pode-se relacionar estes resultados aos obtidos nas curvas de polarização potencioestática (item 4.6) em que se observou grande quantidade de pites nos corpos de prova dos ensaios em que as BRS estavam presentes, apresentando também diminuição do potencial de corrosão, evidenciando a importância dos produtos metabólicos na reação anódica além da catódica.

Resultados quanto a influência dos pites na formação de trincas foram descritos por Galvele e Semino (1971) que realizaram curvas de polarização potencioestáticas anódicas e catódicas juntamente com medidas do tempo de início de fratura em função do potencial aplicado em solução de NaCl 0,5 M com amostras tensionadas de aço AISI 4340. Observaram através da curva anódica que o tempo de ruptura do material metálico diminuiu, com aplicação de potenciais acima de 300 mV_(ENH) na zona de corrosão por pites, bem como com aplicação de potenciais catódicos abaixo de -700 mV_(ENH) o tempo de início da trinca também diminuiu. Através destes resultados os autores confirmaram a existência de duas faixas de potenciais para qual o material fraturava. As zonas de potenciais baixos corresponde a redução catódica do íon H⁺ sobre a superfície metálica e, portanto, a corrosão sob tensão se pode atribuir a um processo de fragilização pelo hidrogênio. Na zona anódica foi observado diminuição significativa do tempo de fratura que ocorria para potenciais superiores ao potencial de pite. As fractografias das amostras usadas nas duas faixas de potencial apresentaram-se semelhantes, o que indicaria que em ambos os casos atua o mesmo mecanismo de propagação. Isto pode ocorrer para as trincas que ocorrem acima do potencial de pite pelo fato de o eletrólito dentro dos pites ser bem mais ácido que no resto da solução e no interior dos mesmos criam-se condições termodinâmicas que permitem a redução do íon H⁺. Sendo assim, os pites que se formam nestes potenciais elevados estão associados a iniciação da trincas no aço 4340, o que foi comprovado metalograficamente pelos autores.

O filme de sulfeto de ferro observado nos ensaios também pode interferir devido à característica catódica em relação ao ferro e à formação não homogênea sobre a superfície metálica, originando áreas anódicas e catódicas promovendo a corrosão por frestas e, mesmo que o pH da solução utilizada fosse alcalino, a corrosão por frestas pode ocasionar uma acidificação localizada. Além disto, o filme de FeS pode interferir na formação de H₂ (Swords et al., 1998) e assim disponibiliza o hidrogênio atômico podendo aumentar a absorção no metal, levando à fragilização.

Os filmes formados sobre a superfície metálica interferem tanto no processo de corrosão como na absorção do hidrogênio e no tipo de fratura observada, e são dependentes do meio aquoso. Fatores como temperatura, tempo em que a amostra metálica está em contato com a solução, concentração de oxigênio, disponibilidade de nutrientes para o desenvolvimento dos microrganismos, concentração de determinados íons, como os ferrosos,

influenciam o processo, além dos fatores externos como a aplicação de potenciais catódicos. Sobre a superfície metálica pode ocorrer desde a aderência das células até a formação de filmes/biofilmes muito espessos com a deposição de cátions da solução. De acordo com Swords et al. (1998), estes filmes podem ter características de filmes protetores e depósitos de diferente natureza química e biológica (óxidos, sulfetos, hidróxidos e biofilmes).

Dependendo das condições, o H_2S pode ser gerado muito próximo à superfície metálica e levar a uma fratura frágil como observado nos ensaios de baixa taxa de deformação, como também, devido à formação de filmes de calcáreos e biofilmes, por exemplo, promover uma barreira dificultando assim a entrada de hidrogênio.

Desta forma podem estar envolvidos os seguintes mecanismos na fratura do aço observada em meios com BRS:

- corrosão localizada;
- formação de células de aeração diferencial devido à aderência de microrganismos, formação de biofilme e do filme de FeS ;
- fragilização pelo hidrogênio.

6 CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos no presente trabalho, podem ser enumeradas as seguintes conclusões:

1. A concentração de íons ferro do meio bacteriológico pode influenciar:
 - a) o crescimento das Bactérias Redutoras de Sulfato no meio bacteriológico, e portanto ao tempo para detecção de sulfeto de ferro, sendo que em meio bacteriológico PGB isto ocorre em torno de 3 dias, já em meio bacteriológico PGC este período é de 10 dias.
 - b) as características do filme de sulfeto de ferro, que pode ser mais ou menos aderente à superfície metálica.
2. O inóculo com Bactérias Redutoras de Sulfato conseguiu desenvolver-se em meio bacteriológico PGC modificado com $NaOH$ 0,1M até o pH 12.

3. A diminuição do SO_4^{2-} com a formação de H_2S em função do tempo é devida ao consumo pelas BRS presente nos meios bacteriológicos.
4. Ocorre a aderência de Bactérias Redutoras de Sulfato em amostras de Ferro Armco e de Aço SAE 4140 com a aplicação dos potenciais catódicos de -750 e -1000 $\text{mV}_{(\text{ENH})}$. Com aplicação do potencial de -1000 $\text{mV}_{(\text{ENH})}$ diminuiu a colonização de células.
5. As Bactérias Redutoras de Sulfato através dos produtos metabólicos, principalmente o H_2S e o resultante FeS , influenciam o processo de corrosão diminuindo o potencial de corrosão das amostras metálicas e favorecendo a corrosão tipo pite em amostras de ferro Armco e do aço SAE 4140.
6. As medidas dos ensaios de permeação eletroquímica mostraram que o H_2S gerado metabolicamente, tanto nos meios com as bactérias pré-crescidas por 10 dias quanto nos ensaios com o pré-inóculo colocado diretamente na célula de permeação, inicialmente aumenta a concentração de hidrogênio nas amostras de ferro Armco.
7. A diminuição da concentração de hidrogênio observada após um determinado período (30 horas) nos ensaios de permeação eletroquímica pode ser devido a formação de calcáreos (devido ao pH alcalino da solução), de biofilme e de um filme de sulfeto de ferro.
8. O filme de sulfeto de ferro se forma (ou precipita) sobre a superfície metálica mesmo com aplicação de potenciais catódicos abaixo de -1000 $\text{mV}_{(\text{ENH})}$, embora termodinamicamente não seja previsto para as soluções utilizadas, devido aos micro-ambientes que podem ser formados com o desenvolvimento do biofilme e com a diminuição da concentração de oxigênio.
9. A aplicação do potencial catódico interfere na formação do filme de sulfeto de ferro, porque foi observado que nos ensaios de permeação eletroquímica ao potencial de

corrosão o filme formado era mais espesso e uniformemente distribuído sobre a superfície metálica se comparado aos ensaios com aplicação de potencial catódico.

10. As bactérias redutoras de sulfato podem promover fragilização pelo hidrogênio ao potencial de corrosão e em potenciais catódicos no aço SAE 4140, provavelmente associado ao incremento da reação de formação de hidrogênio pelo H_2S , e sua conseqüente absorção.

11. Em meios abióticos o tipo de fratura observada nos ensaios de tração de baixa de deformação em amostras de aço SAE 4140 foi de fratura dúctil que passou para frágil em meios bióticos.

12. A propagação da trinca por fragilização pelo hidrogênio depende dos seguintes parâmetros para sua nucleação e crescimento: a ocorrência de pites em meios com BRS, formação de zonas de aeração diferencial devido ao biofilme e à precipitação de produtos sólidos e do filme de sulfeto de ferro que pode ocorrer juntamente com o biofilme.

Referências Bibliográficas

ALEXANDER, M. Most Probable Number Method for Microbial Populations. In: PAGE, A. L. ed. Methods of soil analysis; parte 2, Chemical and Microbiological Properties. Madison: American Society of Agronomy, p. 815-820. (Agronomy Monograph, 9), 1982.

ANGELL, P e URBANIC, K Sulphate-reducing bacterial activity as a parameter to predict localized corrosion of stainless alloys. Corrosion Science, v. 42 p.897-912, 2000.

ASAHI, H. et al. Metallurgical Factors Controlling SSC Resistance of High-Strength, Low – Alloy Steels. *Corrosion*, v.5 n.6, 1989.

AZEVEDO, C. et al. Hydrogen Permeation Studied by Electrochemical Techniques. *Electrochemical Acta*, v. 44, p. 4431-4442, 1999.

BEECH, I. B. et al. The influence of cathodic protection on the attachment of sulphate reducing bacteria to carbon steel surfaces. *Corrosão e Protecção de Materiais*, v.15, n.2, p.25-31, 1996.

BEECH, I.B. et al. Study of parameters implicated in the biodeterioration of mild steel in the presence of different species of sulfate-reducing Bacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation*, p. 289-303, 1994.

BEECH, I.B.; CHEUNG, C.W.S. Interactions of exopolymers produced by sulfate reducing bacteria with metal ions. *International Biodeterioration & Biodegradation*, p.59-72, 1995.

BEECH, I.B.; CHEUNG, C.W.S. The use of biocides to control sulfate-reducing bacteria in biofilms on mild steel surfaces. *Biofouling*, v.9 (3), p.231-249, 1996.

BEECH, I.B.; et al. Study of parameters in the biodeterioration of mild steel in the presence of different species of sulphate-reducing bacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation*, p.289 - 303, 1994.

BENTO, F. M. Biocorrosão do aço ASTM A283-93-C em sistemas diesel/água e o efeito de um biocida. Tese de Doutorado. UFRGS/PPGEM, Porto Alegre, 2001.

BERTOLINI, L. et al. Prevention of steel corrosion in concrete exposed to seawater with submerged sacrificial anodes. *Corrosion Science*, v. 44, n. 7, p. 1497-1513, 2002.

BIEFER, G.J. Sulfide Stress Cracking Behavior of Some “Big –Inch” Line-Pipe Steels. Corrosion NACE, v.32, n.9, 1976.

BIEFER, G.J. The stepwise Cracking of Line-Pipe Steels in Sour Environments. Materials Performance, Jun, 1982.

BIRRIEL, E.J. Estudo da corrosão microbiológica do aço ABNT 1004 em meios com bactérias Pseudomonas aeruginosa Dissertação de Mestrado, UFRGS/PPGEM, 1993.

BLUNDY, R. F.; SHREIER, L.L. The effect of pressure on the permeation on hydrogen through steel. Corrosion Science, v.17, p.106-112, 1977.

BROWN, A e JONES, C.L. Hydrogen induced Cracking in pipeline Steels National association of Corrosion Engineers. Corrosion-NACE, p. 330-336, 1984.

CALLISTER, W.D. Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução LTC RJ, 2002.

CHAMBERLAIN, A.H.L. et al. An Interdisciplinary Approach for microbially Influenced Corrosion of Cooper Microbial Corrosion – Proceedings of the 3rd International EFC Workshop Ed. Tiller and C.A.Sequeira, p. 3, 1995.

CHARACKLIS, W. , MARSHALL, K C. Biofilms: a basis for an interdisciplinary approach. Cap 1, p. 3-15, 1989.

CHEUNG, C.W. S. et al. Effect of industrial biocidas on sulphate – reducing bacteria under hight pressure International Biodeterioration & Biodegradation, p. 299-310, 1994.

COLIN, F. et al. Contribution of microbiological Phenomena in the Localised Corrosion of Stailless Steels. Proceedings of the 3rd International EFC Workshop Ed. Tiller and C.A.Sequeira, p. 107-118, 1995.

COUDREUSE, L.; CHARLES, J. The use of a permeation technique to predict critical concentration of H₂ for cracking. *Corrosion Science*, v.27, n.10/11, p.1169-1181, 1987.

CRAGNOLINO, G.A. Corrosion de metales Octavo Curso panamericano de Metalurgia B. Aires, Argentina, 1972.

CROLET, J. L., MAGOT, M Observations of non-SRB sulphidogenic bacteria from oilfield production facilities. *Corrosion/95*, Paper No. 188, NACE International, Houston, TX 1995.

DAUMAS, S., MASSIANI, Y. e CROUSIER, J. Microbiological Battery Induced by Sulphate-Reducing Bacteria *Corrosion Science*, v. 28. No. 11, p.1041-1050, 1988.

DELLA MEA, L. Estudo da absorção de hidrogênio em meios que modelam a corrosão do ferro em concreto. Dissertação de Mestrado. UFRGS. 1994.

DEVANATHAN, M. A.V.; STACHURSKI, Z. The adsorption and diffusion of electrolytic hydrogen in palladium *Proc. Roy. Soc. A*, 270, p. 90-102, 1962.

DEXTER, S.C. e LIN, S. Effect of marine biofilms on cathodic protection. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 29, p.231-249, 1992.

DICK, L.F.P. Estudos eletroquímicos de hidrogênio e determinação de concentrações críticas de hidrogênio em um aço de alta dureza. Dissertação de Mestrado, PPGEM/UFRGS. Porto Alegre, 1986.

DICK, L.F.P.; KAESCHE, H. Determinação de concentrações críticas de H através de teste fractomecânico com permeação simultânea de H. 1º Encontro Brasileiro de Gases em Metais, p.33, São Carlos, 1987.

DRIVER, R. Electrodeposition of palladium on iron and steel for electrochemical hydrogen studies. *J. Electrochem. Soc.*, 128 (11), 1981.

EDYVEAN, G.J.; BENSON, J. The importance of bacterially generated hydrogen permeation through metals - Microbial corrosion. Proceedings of the 3rd International EFC Workshop Ed.: A.K. Tiller and C.A.C. Sequeira, p.233 – 240, 1995.

EDYVEAN, R.G.J. Hydrogen Sulphide – A corrosive metabolite International Biodeterioration Elsevier Science Publisher Ltd , p.109 –120, 1991.

EDYVEAN, R.G.J. et al. Biological influences on Hydrogen effects in steel in seawater Materials Performance, v.37, n..4, 1998.

EDYVEAN, R.G.J.; THOMAS, C.J.; BROOK, R. Biologically enhanced corrosion fatigue Biofouling, v.1 p. 65-77, 1988.

EDYVEAN, R.G.J.; VIDELA, H.A. Biological Corrosion Recent Advances in Biodeterioration and Biodegradation. K.L Garg, Neelima Garg and k.G. Mukerji Eds., v.II, p.81-116.

ENGLERT, G. E.; et al. Corrosão de um aço-mola em água combustível: Um enfoque eletroquímico. In: XIII Congresso de la Sociedad Iberoamericana de Electroquímica, 1998, Viña del Mar. Anais do XII SIBEE, , p.359-360, 1998.

ENGLERT, G. E.; MÜLLER, I. L. Corrosão de um aço-mola em óleo diesel metropolitano. In: Third Latin American Biodegradation & Biodeterioration Symposium, 1998, Florianópolis CD ROM, 1998.

ENGLERT, G.E. e BIAZI, N. Tese de doutorado em andamento. PPGEM/UFRGS, 2003.

FERON, D. Attachment of *Desulfovibrio vulgaris* to steel: influence of alloying elements Proceedings of the 3rd International EFC Workshop, Ed. Tiller and C.A.Sequeira.,p. 119-134, 1995

FERRARI, M.D.; MELE, M.F.L; VIDELA, H.A. Manual Prático de Biocorrosão e Biofouling para a Indústria CYTED, p. 171, 1995.

FLETCHER; M. e LOEB, G.I.; Influence of substratum characteristics on the attachment of a marine Pseudomonad to solid surfaces Applied and environmental microbiology, v.37, n.1, p. 67- 72, 1979.

FLIS, J et al. Changes in hydrogen entry rate and in surface of iron during cathodic polarisation in alkaline solutions Electrochemica Acta, v. 44, p. 3989-3997, 1999.

FONSECA, I.T.E. et al. As bactérias redutoras de sulfato e a biocorrosão de aços Corrosão e Protecção de Materiais, v.15, n.2, p.6-14, 1996.

FONSECA, I.T.E.; LINO, A R.; RAINHA, V.L. Biocorrosion of mild steel by sulphate reducing bacteria microbial corrosion. Proceedings of the 3rd International EFC workshop Ed.: A.K. Tiller and C.A.C. Sequeira, p. 188 – 197, 1995.

GALVELE, J.R. E SEMINO, C.J. 2º Simposio latinoamericano de Corrosion. Rio de Janeiro, 1971.

GAYLARDE, C. C. Sulphate –reducing bacteria which do not induce accelerated corrosion International Biodeterioration & Biodegradation, v.30, p. 331-338, 1992

GAYLARDE, C.C.; LATORRE, W.C. Microbial Problems in cooling water systems Biodeterioration Abstracts, v.6, n.4, p. 229-223, 1992.

GEMELLI, E. Corrosão de Materiais Metálicos e sua Caracterização LTC RJ, 2001.

GENTIL, V. Corrosão Editora Guanabara S.A., 1987.

GERHARDT, P. et al Manual of methods for general Bacteriology American Society for Microbiology, Washington DC, p. 79, 1981.

GUEZENNEC, J.G. Cathodic protection and microbially induced corrosion. International Biodeterioration & Biodegradation, p. 275-288, 1994.

GUIAMET, P.S. and VIDELA, H. A. Efecto de los contaminantes microbianos de turbocombustibles en la corrosión microbiológica del aluminio y aleaciones Ver. Iber. Corros. Y Prot. v XVII, n 5 -1986

HAMILTON, W.A. Sulphate-reducing bacteria and anaerobic corrosion. Ann. Rev. Microbiol., v.39, p. 195-217, 1985.

HAMPEL, C.A. Editor. The Encyclopedia of Electrochemistry. Reinhold Publishing corporation, New York Chapman 8 Hall, Ltd. London, 1964.

HECK, N. C. Contribuição ao estudo da susceptibilidade à Corrosão-sob-tensão do aço inoxidável austenítico SAE 304 em $MgCl_2$ a $125^{\circ}C$ por meio do ensaio de tração com baixa taxa de alongamento. Porto Alegre, 102f. Dissertação de Mestrado. UFRGS/DEMET, 1981.

HERBSLEB, G et al. Occurrence and prevention of Hydrogen Induced Stepwise Cracking and stress Corrosion Cracking of low Alloy Pipeline Steel Corrosion – NACE , v.36, n.5, 1981.

IOFA, Z.A., In Inhibitors Corrosion, Protection against sulfide and carbon-dioxide corrosion. p.491, 1970 Ed. Mc Graw Hill International Book Company, 1981.

IVERSON, W.P. Research on the mechanisms of anaerobic corrosion. International Biodeterioration & Biodegradation, 47, p. 63-70, 2001.

IYER, R..N. e PICKERING, H. Analysis of hydrogen evolution and entry into metals for the discharge-recombination process. J. Electrochem. Soc., v. 136, n.9, 1989.

JEFFREY, R e MELCHERS, R.E. Bacteriological influences in the development of iron sulphide species in marine immersion environments. Corrosion Science, v. 45, p. 693-714, 2003.

KARAVAIKO, G.I. et al. Biogeotechnology of metals - Manual Scientific Editors. Moscou, p. 27, 1988.

KASARARA, K et al. Laboratory Evaluation of the Effectiveness of Cathodic Protection in the Presence of Sulphate Reducing Bacteria Proceedings of the 3rd International EFC Workshop, Ed. Tiller and C.A.Sequeira, p.367-374, 1995.

KIMURA, M, et al. Effect of Enviromental Factors on Hydrogen Permeation in Line Pipe Steel Corrosion Science, v.44, n.10, 1988.

KOHUT, G.B.; MCGUIRE, W.J. Sulfide Stress Cracking of Compressor Components in Refinery Service. Nace International. Editors Russell D. Kane et al., Houston Texas, p.309, 1996.

KORYTA, J. et al. Electrochemistry Ed. Butler & Tanner, 347 p, 1970.

KUZYUKOV, A.N. et al. How hydrogen affects operability of chemical and petrochemical equipment made of carbon and low alloy steel. International Journal of Hydrogen Energy 27, p.813-817, 2002.

LAPPIN-SCOTT, H.M et al. Survival mechanisms of hydrogen sulphide-producing bacteria isolated from extreme environments and their role in corrosion International Biodeterioration & Biodegradation, p. 305-319, 1994.

LEE, W.; CHARACKLIS, W.G. Corrosion of mild steel under anaerobic biofilm *Corrosion*, v. 49, n.3, p.186 – 198.

MA, H.Y. et al. An ac impedance study of the anodic dissolution of iron in sulfuric acid solutions containing hydrogen sulfide *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 451 p. 11-17, 1998.

MA, H.Y. et al. The influence of hydrogen sulfide on corrosion of iron under different conditions *Corrosion Science*, v . 42, p.1669-1683, 2000.

MANOLATOS, P. et al. Hydrogen Absorption by cathodically protected underground steel piping thiosulfate containing media. *Corrosion Science*, vol. 40, n 4/5, p. 619-629, 1998.

MAXWELL, S. Effect of cathodic protection on the activity of microbial biofilms. *Materials Performance*, 11, p. 53-56, 1986.

MERRICK, R.D. An Overview of Hydrogen Damage to steels at low temperatures. *Nace International*. Editors Russell D. Kane et all, Houston Texas, p.145, 1996.

MIRANDA, F.J.F. et al. Avaliação da Susceptibilidade de Aços API a trincas Induzidas pelo H em meios contendo H₂S e Água *Metalurgia – ABM*, v.140, n.325, 1984.

NEUMANN, P. Embrittlement due to gaseous and liquid environments *Materials Science and Engineering*, A176, p. 9-18, 1994.

OBUZOR, U.W.; GOWERS, K.R.; COTTIS, R.A. The effect of marine fouling on hydrogen uptake by steel. 7TH European Symposium on corrosion Inhibitors, v.1, 1990.

OU, K.C. e WU, J.K. Effect of calcareous deposits formation on the hydrogen absorption of steel. *Materials Chemistry and Physics*, 48, p. 52-55, 1997.

POSTGATE, J.R. The sulfate reducing bacteria. Cambridge. University press. London – N.Y. N Rochelle Melbourne. Sidney, 1981.

PRESSOUYRE, G.M., BERNSTEIN, I.M. A quantitative analysis of hydrogen trapping Met.Trans, 9A, p. 1571 – 1580, 1978.

RAO, T.S. et al. Carbon steel corrosion by iron oxidising and sulphate reducing bacteria in a freshwater cooling system. Corrosion Science, v. 42, p. 1417-1431, 2000.

ROSENFELD, I. Inhibitors Corrosion, Protection against sulfide and carbon dioxide corrosion, p. 275-279 Ed. Mc Graw Hill International Book Company, 1981

SAKAMOTO, Y.; MANTANI, T. Effect of quenching and tempering on diffusion in carbon steel Trans. JIM, 17, p.743- 748, 1976.

SALIÉS, J.B.; MEDEIROS, F.A. O que você deve saber sobre H₂S para dimensionar o seu revestimento III Seminário de revestimento e cementação de Poços de Petróleo, Rio de Janeiro, 1989.

SANTEGOEDS, C.M. et al. Structural and Functional Dynamics of Sulfate-Reducing Populations in Bacterial Biofilms Applied and Environmental Microbiology, v.64, n.10, p.3731-3739, 1998.

SANTOS, D.S. et al. Mobilidade do Hidrogênio em Aços Baixo Carbono: Influência da Microestrutura e Grau de Deformação 48º congresso Anual da ABM, 1993.

SARAVIA, S.G.G. et al. Bacterial Biofilms on Cathodically Protected Stainless Steel. Biofouling, v. 11, p. 1-17, 1997.

SARAVIA, S.G.G. et al. Corrosion product layers and biofouling interactions on 70/30 cuproniquel in polluted chloride media. Biofouling , v. 7 , p. 141-155, 1993.

SCHROEDER , R. M. Contribuição ao estudo da susceptibilidade à corrosão –sob-tensão do aço inoxidável austenítico AISI 304 em meios aquosos contendo cloretos. Dissertação de Mestrado PPGEM, UFRGS, 1982.

STANLEY, P.M. Factors affecting the irreversible attachment of *Pseudomonas aeruginosa* to stainless steel *Canadian Journal of Microbiology*, v.29, p.1493 – 1499, 1983.

STARKEY, R.L. e WIGHT, K.M. *Anaerobic Corrosion of Iron in Soil*, Am. Gas Ass. New York, 1945.

STAROSVETSKY, D. et al. Effect of iron exposure in a SRB media on pitting initiation. *Corrosion Science*, v. 42, p. 345-359, 2000

STODIKA, D.O. et al. Tritium tracer technique for the measurement of hydrogen permeation in polymeric materials. *International Journal of Hydrogen Energy*, v.25, n.11, p.1129-1136, 2000.

SWORDS, C.L. et al. Changes in the protective characteristics of the films formed on the mild steel surfaces during SRB growth. *LABS 3*, paper 89, 1998.

TAIRA, T et al. Sulfide Corrosion Cracking of linepipe for Sour Gas Service. *Nace International* Editors Russell D. Kane et al., Houston Texas, p.359, 1996.

TAIRA, T. et al. Sulfide Corrosion Cracking of Linepipe for Sour Gas Service. *Corrosion – NACE*, v.37, n.1, 1981.

TELLES, P.C.S. *Materiais para equipamentos de processo*. 5ª Ed. RJ Interciência 240 p, 1994.

THIES, M. et al. Physical Behavior of Biopolymers as Artificial Models for Biofilms in biodeterioration of copper. Solution and surface properties of biopolymers. Proceedings of the 3rd International EFC Workshop Ed. Tiller and C.A.Sequeira, p. 17- 48, 1995.

THOMAS, C.J. , EDYVEAN, R.G. J. e Brook, R. Biologically enhanced corrosion fatigue. Biofouling, v. 1, p. 65-77, 1988.

THOMAS, C.J. et al. The effects of microbially produced hydrogen sulphide on the corrosion fatigue of offshore structural steels. Corrosion Science, v. 27, n.10/11, p. 1197-1204, 1987.

VETTER, K.J. Electrochemical Kinetics Theoretical and Experimental Aspects. Ed. Academic press, p.516 a 609, 1967.

VIDELA, H. A. Corrosão Microbiológica Ed. Edgard Blücher, 65 p. Série Biotecnologia v.4, 1986.

VIDELA, H.A. Biocorrosion in the industry: a present perspective. Corrosão e Protecção de Materiais, v.15, n.2, p.21-24, 1996.

VIDELA, H.A. An Overview of mechanisms by which sulphate-reducing bacteria influence corrosion of steel in marine environments. Biofouling,, v. 15 (1-3), p. 37-47, 2000.

VIDELA, H.A. e Salvarezza, R.C. Introduccion a la Corrosion Microbiologica, Ed. Biblioteca Mosaico, 127 p., 1984.

WALTKINGS, M.; VAUGHN, G. A. Effects of H₂S partial pressure on the sulfide stress cracking resistance of steel. Materials Performance, 1986.

WALTKINS, P. et al. The influence of cathodic protection on the attachment of sulphate bacteria to carbon steel surfaces. Corrosão e Protecção de Materiais, v.15, n.2 p.25-31, 1996

WARREN, D. Hydrogen effects on steel Materials. Materials Performance, p.38-47, 1987.

WILHELM, S.M.; ABAYARATHNA, D. Inhibition of Hydrogen Absorption by Steels in Wet Hydrogen Sulfide Refinery Environments , 1994.

Anexo 1

Solução NACE é uma solução padrão de água do mar sintética preparada segundo a norma ASTM D1141-90, com a seguinte composição química:

Componente	Concentração g/L	Concentração Molar
NaCl	24,53	$4,20 \times 10^{-1}$
MgCl ₂	5,2	$5,43 \times 10^{-2}$
Na ₂ SO ₄	4,09	$2,88 \times 10^{-2}$
CaCl ₂	1,16	$1,05 \times 10^{-2}$
KCl	0,695	$9,32 \times 10^{-3}$
NaHCO ₃	0,201	$2,39 \times 10^{-3}$
KBr	0,101	$8,49 \times 10^{-4}$
H ₃ BO ₃	0,027	$4,37 \times 10^{-4}$
SrCl ₂	0,025	$1,58 \times 10^{-4}$
NaF	0,003	$7,14 \times 10^{-5}$

O pH desta solução é de aproximadamente 8,2. Ao saturar-se com H₂S esse pH cai para cerca de 5,2 a temperatura ambiente.

Anexo 2

Postgate B	(g/L)
KH_2PO_4	0.5
NH_4Cl	1.0
Na_2SO_4	1.0
$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.1
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2.0
Lactato de sódio	5,0
Extrato de levedura	1.0
Tioglicolato de sódio	0.1
Ácido ascórbico	0.1

FeSO ₄ . 7H ₂ O	0.5
Água destilada	1000 mL

Meio Postgate C (g/L)

KH ₂ PO ₄	0.5
NH ₄ Cl	1.0
Na ₂ SO ₄	4.5
CaCl ₂ . 6H ₂ O	0.06
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.06
Lactato de sódio	6.0
Extrato de levedura	1.0
FeSO ₄ . 7H ₂ O	0.004
Citrato de sódio	0.3
Água destilada	1000 mL

Meio Postgate E (g/L)

KH ₂ PO ₄	0,5
NH ₄ Cl	1,0
Na ₂ SO ₄	1,0
CaCl ₂ . 6 H ₂ O	1,0
MgCl ₂ . 7 H ₂ O	2,0
Lactato de sódio	3,5
Extrato de levedura	1,0
Ácido ascórbico	0,1
Ácido tioglicólico	0,1
FeSO ₄ . 7 H ₂ O	0,5
Ágar	15,0
Água destilada	

Ajustar o pH = 7.6 com NaOH.

Meio Ágar nutriente	(g/L)
Peptona de gelatina	5,0
Extrato de levedura	3,0
Ágar	15,0
pH final	$6,8 \pm 0,2$ a 25°C

