

5º CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM PETRÓLEO E GÁS



TÍTULO DO TRABALHO:

AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE BIOFILME E CORROSÃO EM DUTOS DE AÇO CARBONO E AÇO INOXIDÁVEL ENTERRADOS EM SOLO

AUTORES:

Sylviane Franco Charret¹; Eliana Flávia C. Sérvulo¹ & Márcia Teresa Soares Lutterbach²

INSTITUIÇÃO:

1- Tecnologia dos Processos Químicos e Bioquímicos – Escola de Química/UFRJ

2- Instituto Nacional de Tecnologia – INT/MCT

Abstract

Metal corrosion is one of the main damages causing great economic losses in pipeline systems of the petroleum industry. Microbial communities associated to biofilm promote corrosion of oil pipelines. The community structure of bacteria in the biofilm formed in oil pipelines is the basic knowledge to understand the complexity and mechanisms of metal corrosion. It has been found that microbial communities play a significant role in the corrosion process of carbon and steels exposed in aquatic and soil environments. In this study, soil samples (1, 2 and 3) were collected in Southeast of Brazil and analyzed physico-chemically and microbiologically to establish their aggressivity to carbon steel. The three soil samples showed different characteristics, such as: size, chemistry and, mainly, relative quantity of the analyzed microbial populations. All soil samples showed great conditions to foster carbon steel MIC; a material that is usually employed in oil pipelines. The sample 1 presented an extremely high content of SRB.

Introdução

A corrosão pode ser caracterizada como o ataque químico ou eletroquímico que sofre um material, normalmente metálico quando exposto ao ambiente, acarretando retorno do material à forma de óxido em uma reação espontânea para todos os metais, exceto os nobres (REF). Vários são os fatores que afetam o processo de corrosão, entre eles, a temperatura, a umidade, os compostos presentes no meio e os microrganismos, em especial as bactérias. A deterioração de metais devido à atividade microbiana é denominada biocorrosão ou corrosão microbiologicamente induzida (CMI). Devido à sua importância econômica e ambiental, a CMI tem sido objeto de extensos estudos nas últimas cinco décadas e vários modelos foram propostos para explicar mecanismos que regem biocorrosão (BEECH & SUNNER, 2004).

A maioria dos processos de corrosão vistos até o momento se relaciona, em menor ou maior grau, com a biocorrosão. Estes influenciam a corrosão de metais ao favorecer reações eletroquímicas, seja pela fixação dos próprios microrganismos, ou pela excreção de seus metabólitos agressivos, modificando drasticamente as características do material. Por sua vez, a alteração da superfície do material permite que novas reações aconteçam, ou que a cinética de reações seja alterada, acelerando o desgaste do material (VIDELA, 2003).

A biocorrosão está diretamente relacionada com a aderência de microrganismos na superfície dos materiais (bioacumulação, *biofouling*) com formação de estruturas microbianas, denominadas de biofilmes que são constituídos de microrganismos, material polimérico extracelular secretado pelos mesmos, partículas em suspensão de diferentes origens e, principalmente, de água, que representa mais de 90% da matriz do biofilme (GEESEY, 1982).

O estudo de corrosão/biocorrosão é um assunto complexo e interdisciplinar, principalmente no que concerne à ação associada de microrganismos, tendo relevância não só pela possibilidade de redução de perdas econômicas (LOUREIRO, 2005). Por exemplo, a corrosão provocada pelo solo em dutos enterrados é um assunto de interesse para diversos setores industriais, uma vez que a grande extensão da malha dutoviária existente corresponde a uma parcela considerável dos custos globais de corrosão. Ademais, a possibilidade da ocorrência de acidentes por vazamentos ou derramamentos de produtos químicos próximos a dutos enterrados é um fator preocupante, já que os mesmos causam a poluição do solo, alterando suas propriedades físico-químicas e gerando impactos a microbiota nele presente (LOUREIRO, 2005).

A resistência dos diferentes tipos de aços utilizados na construção de dutos petrolíferos à corrosão depende da formação de um filme, produto de ação destrutiva, sobre a superfície do material (NOGUEIRA, 2002). Se este filme, constituído usualmente de óxidos metálicos, em geral visível a

olho nu, for volumoso, haverá pequena resistência à penetração do ar e da umidade, o que favorece a formação do filme microbiano, e com isso a taxa de corrosão aumenta.

As ligas de aço-carbono constituem um dos principais grupos de materiais utilizados na engenharia e na indústria. De fato, as propriedades mecânicas desses aços, sem qualquer elemento de liga, e na maioria dos casos também sem qualquer tratamento térmico, são suficientes para atender à maioria das aplicações práticas. É evidente que os aços-carbono apresentam certas limitações, sobretudo quando se desejam propriedades especiais de resistência à corrosão, resistência ao calor, resistência ao desgaste, características elétricas ou magnéticas, exposição ao ambiente microbiano etc. (NOGUEIRA, 2002). Por outro lado, os aços inoxidáveis constituem um dos mais importantes grupos de ligas utilizados pelas indústrias, devido a sua alta resistência ao processo corrosivo. No entanto, ainda são passíveis de sofrer deterioração por CMI (DUAN, HOU & YU, 2005).

Os solos são classificados de acordo com a sua composição e características. No território nacional há uma predominância de solos com alto teor de argila, denominados solos argilosos (MORAES, CAMPAGNA & SANTOS, 2007). Em geral, os solos argilosos são caracterizados por uma grande profundidade de solo arável, baixa capacidade de troca iônica, e uma elevada capacidade de retenção de água. A análise das características granulométricas, físico-químicas e microbiológicas do solo em conjunto com as características do material que nele será confinado é fundamental para prever a velocidade do ataque corrosivo.

O objetivo deste trabalho foi fazer um levantamento das características granulométricas, físico-químicas e microbiológicas de solos coletados em diferentes faixas dutoviárias para futuramente monitorar a formação de biofilmes e a corrosão de cupons de aço carbono AISI 1020 e aço inoxidável 316 a fim de definir a estratégia de tratamento para a prevenção e/ou combate do processo de biocorrosão.

Metodologia

Foram utilizados três tipos de solo, classificados como solo1, solo 2 e solo3, provenientes da região Sudeste do Brasil, coletados no entorno de oleodutos. Cada um dos solos foi homogeneizado e quarteado, e em seguida caracterizados física, química e microbiologicamente. Para quantificação microbiana, uma amostra representativa de cada solo (cerca de 20 g) foi colocada em frasco Erlenmeyer de 500 mL de capacidade contendo 100 mL de solução salina, e homogeneizada por agitação em shaker a 150 rpm por 1h a 25°C. A partir dessa suspensão celular foram feitas diluições decimais sucessivas, e alíquotas foram tomadas e semeadas em meios apropriados para a quantificação dos grupos microbianos mais relevantes para a CMI.

No caso de bactérias aeróbias e fungos filamentosos, as diluições foram feitas em tubos de ensaio contendo 9 mL de solução salina (8,5 g/L de NaCl), vedados com rolha de algodão, de modo a permitir a difusão de oxigênio. Para quantificação dos grupos microbianos anaeróbios, as diluições foram feitas em frascos do tipo penicilina, de 10 mL de capacidade contendo 9 mL de solução redutora (g/L: tioglicolato de sódio 0,124; ácido ascórbico 0,1; resazurina (0,025%) 4 mL; pH na faixa de 6,6 ± 0,1), previamente purgada com nitrogênio. A composição da solução redutora garante que, durante a dispersão das células presentes no biofilme, não haja contato das mesmas com oxigênio, garantindo a sua viabilidade. Após o preenchimento, cada frasco foi vedado e selado, respectivamente, com tampa de borracha e lacre de alumínio.

Bactérias aeróbias – estas bactérias foram quantificadas pela técnica do Número Mais Provável (NMP) (HARRISON JR., 1982) em meio caldo nutriente (MERCK) após um período de incubação de 48 horas a 30 ± 1°C. O crescimento foi visualizado pela turvação do meio.

Bactérias aeróbias produtoras de ácido – foram quantificadas por NMP utilizando o meio caldo vermelho de fenol (MERCK) acrescido de 1% (m/v) de glicose. A quantificação celular foi determinada após um período de incubação de 14 dias a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ através da variação da cor do indicador de vermelha para amarela, característica de pH ácido.

Bactérias oxidantes do ferro – a quantificação foi feita por NMP usando o meio citrato férrico amoniacal (CETESB, 1992). A determinação do crescimento celular foi feita após incubação a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 14 dias pela alteração da coloração do meio de amarelo-claro para marrom-avermelhada característica da oxidação do ferro.

Bactérias anaeróbias – estas bactérias também foram quantificadas por NMP usando meio fluido ao tioglicolato (DIFCO), purgado com nitrogênio, e distribuído em frascos do tipo penicilina, vedados com tampa de borracha e cintas metálicas a fim de manter condição de anaerobiose. Após inoculação, os cultivos foram incubados a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 28 dias, quando os cultivos foram observados quanto ao turvamento.

Bactérias anaeróbias produtoras de ácido – da mesma forma que as bactérias aeróbias produtoras de ácido, foram quantificadas por NMP, usando caldo vermelho fenol acrescido de 1% glicose, sendo que neste caso, o meio foi purgado com nitrogênio, e distribuído em frascos do tipo penicilina, vedados com tampa de borracha e cintas metálicas a fim de manter condição de anaerobiose. Após inoculação, os cultivos foram incubados a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 28 dias.

Bactérias redutoras de sulfato – a quantificação deste grupo microbiano foi feita por NMP usando meio Postgate E modificado (POSTGATE, 1984) purgado com nitrogênio. A condição de anaerobiose foi garantida pela distribuição do meio em frascos do tipo penicilina, vedados com tampas de borracha e cintas metálicas. A determinação do crescimento celular foi feita após incubação a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 28 dias. O crescimento foi evidenciado pela mudança de cor do meio de cultura, de incolor ou ligeiramente rosa para preto, devido à formação de precipitado de sulfeto de ferro (FeS).

Fungos filamentosos – Este grupo microbiano foi quantificado através da contagem de unidades formadoras de colônias (ufc), usando a técnica do espalhamento em superfície, em placas de Petri contendo gelose Sabouraud (g/L) (MERCK). A determinação do crescimento celular foi feita após incubação a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 72 horas.

Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta os principais parâmetros físicos, químicos e granulométricos das três amostras de solo, de relevância para a atividade dos microrganismos autóctones e, conseqüentemente, para estimar a possibilidade e a velocidade de formação de biofilmes. Para haver formação de um biofilme é necessário que os microrganismos apresentem as condições mínimas para sua atividade metabólica, o que depende da disponibilidade de nutrientes, presença e quantidade de compostos tóxicos, assim como também das condições físicas existentes no ambiente (GALVÃO, 2008).

Conforme pode ser observada (Tabela 1), a composição dos solos é bastante variável. Segundo Nedwell & Gray (1987) solos com teor de argila próximo a 12% podem manter os microrganismos e substratos dentro do espaço poroso, favorecendo a atividade enzimática. Entretanto, solos com texturas muito finas ou com altas densidades de partículas não podem manter um suprimento de água adequado, prejudicando a ação dos microrganismos (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Os solos analisados apresentaram um baixo conteúdo de matéria orgânica. Em especial, o solo 2 apresentou teor de carbono relativamente pequeno. Em princípio, a baixa quantidade de carbono sugere que o metabolismo microbiano será restrito.

Em todos os solos também foi detectada quantidade do elemento fósforo. Contudo, neste caso, o solo 1 apresentou quantidade 10 vezes maior do que os outros solos. Considerando que a relação carbono/fósforo recomendada para degradação de compostos orgânicos no solo é de 100:1, nenhum dos solos atende as condições nutricionais ideais destes elementos (ALEF & NANNIPIERI, 1995). De fato, os solos apresentaram um teor de fósforo muito maior do que o requerido, em particular o solo 1. Destaca-se que um elevado excesso de fósforo pode levar a limitação do crescimento de algumas espécies microbianas, em decorrência da insolubilização de outros elementos como, por exemplo, o cálcio, ou em função da elevação do pH.

Tabela 1: Análise física, química e granulométrica de solos provenientes do entorno de oleodutos

Solo	Silte (%)	Argila (%)	Areia (%)	C (g/Kg)	P (mg/Kg)	S ($\text{SO}_4^{=}$) (mg/ Kg)	pH
1	26	17	57	9,20	10	61	6,9
2	43	60	51	2,20	1	11	6,0
3	13	50	37	8,30	1	28	6,6

Comparativamente, o solo 1 também apresentou o maior teor de enxofre. Este resultado é importante pois se houver a presença de bactérias redutoras de sulfato neste solo, certamente seu metabolismo será estimulado uma vez que as espécies deste grupo microbiano são capazes de assimilar uma grande diversidade de fontes de carbono. Deve ser ainda considerado que existem quantidades de carbono e fósforo favoráveis para o seu crescimento (Tabela 1).

Em relação ao pH, os solos apresentam valores na faixa de 6,0 a 6,9. O pH da maioria dos solos está em torno de 4,0 e 8,5 (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Horizontes superficiais, com clima úmido, são em sua maioria ácidos, enquanto as regiões semi-áridas e secas geralmente são alcalinos. Fatores como a chuva ácida, fertilidade do solo e a fixação biológica do nitrogênio podem baixar o pH do solo (PRIMAVESI, 1999). O pH pode afetar a quantidade e diversidade de microrganismos num habitat, uma vez que influencia diretamente tanto a disposição quanto a toxicidade dos nutrientes minerais nele presentes. Os fungos apresentam uma faixa ampla de pH de 2,0 a 9,0, embora seu crescimento seja mais intenso em ambientes com pH de cerca 5,0. Por outro lado, as bactérias, incluindo os actinomicetos, são metabolicamente mais ativas em valores de pH na faixa de 6 a 8, preferencialmente próximo ao neutro. (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Logo, pode-se concluir que os valores de pH dos três solos são adequados para que a CMI venha a ocorrer.

A análise microbiológica dos solos revelou a presença de fungos filamentosos e variados grupos de bactérias, aeróbios e anaeróbios (Figura 1 a e b). Pode-se observar uma variação muito distinta das populações microbianas, qualitativamente e quantitativamente. Ademais, as concentrações celulares não apresentaram correspondência com as condições nutricionais e pH dos solos.

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

Exceto para o solo 2, houve predominância de bactérias aeróbias. É interessante destacar o elevado número de ferrobactérias e de bactérias produtoras de ácido nos solos 1 e 3. Através do seu mecanismo de oxidação do ferro, as ferrobactérias promovem a formação de tubérculos, sob os quais se estabelecem condições propícias ao desenvolvimento de microrganismos anaeróbios, tais como as

bactérias redutoras de sulfato (GENTIL, 2003). Por isso, um grande número de ferrobactérias. Por outro lado, as bactérias produtoras de ácido aeróbias, além do consumo de oxigênio produzem compostos que também favorecem a atividade das BRS.

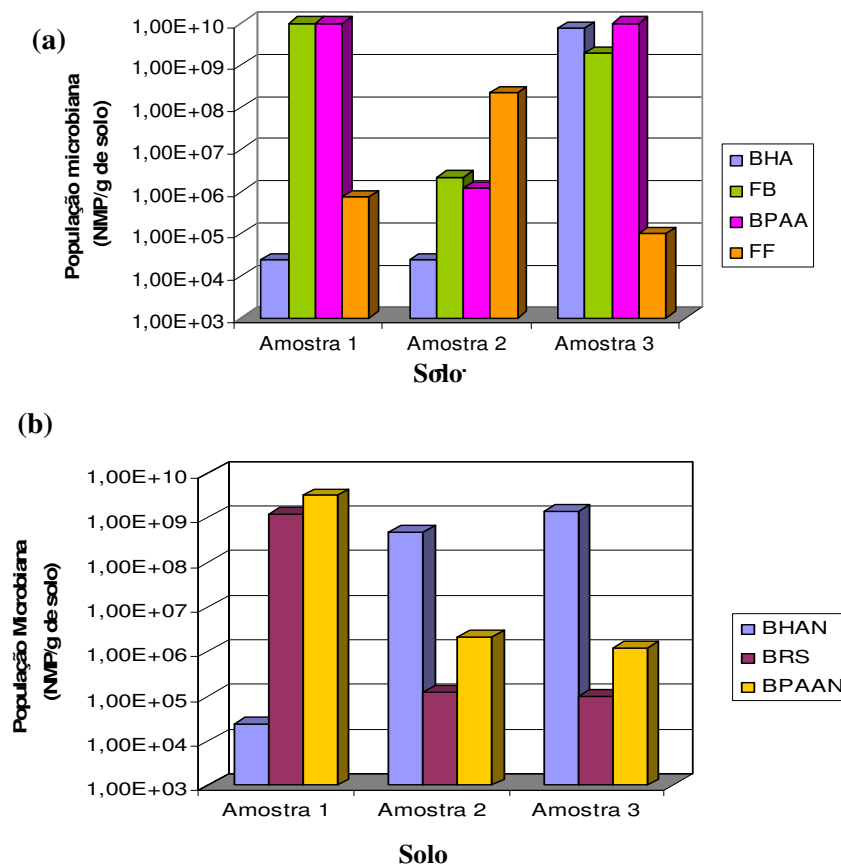


Figura 1: Número de populações de microrganismos aeróbios (a) e anaeróbios (b) presentes em diferentes solos (BHA: bactérias heterotróficas aeróbias; FB: ferrobactérias; BPAA: bactérias produtoras de ácido aeróbias; BHAN: bactérias heterotróficas anaeróbias; BRS: bactérias redutoras de sulfato; BPAAN: bactérias produtoras de ácido anaeróbias).

Interessante notar que apenas o solo 3 apresentou um número elevado de bactérias heterotróficas aeróbias. Estas são importantes no processo de corrosão, por favorecerem a adesão microbiana à superfície metálica pela produção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) e, primordialmente, por estabelecerem condição de anaerobiose, requisitos necessários ao desenvolvimento das BRS. A análise da figura permite ainda evidenciar que no solo 3 não houve variação expressiva dos números de bactérias heterotróficas cultivadas em condição de aerobiose e anaerobiose. Portanto, neste solo, esta população era preponderantemente composta de bactérias facultativas.

As bactérias redutoras de sulfato também foram identificadas nas diferentes amostras de solo analisadas. À este grupo microbiano, amplamente distribuído na natureza, é frequentemente atribuído a responsabilidade da CMI (GENTIL, 2003). A detecção de um número de BRS superior a 10^3 NMP/mL já sinaliza para tomada de medidas de controle. Logo, o número muito elevado de BRS que se evidencia no solo 1 é alarmante.

A caracterização microbiológica dos solos também detectou a presença de fungos em número considerável, particularmente no solo 2. Estes microrganismos, embora não sejam considerados colonizadores primários de superfícies sólidas, participam na formação de biofilmes (GAYLARDE,

1991). Os fungos filamentosos favorecem a consolidação do biofilme pelo crescimento de suas hifas, que se estendem através do biofilme, aprisionando as bactérias em uma estrutura semelhante a uma malha.

A necessidade de obtenção da avaliação da agressividade do solo em períodos de tempo curtos tem levado vários pesquisadores a estudar métodos de medidas indiretas que se baseiam na correlação das propriedades do solo e a corrosividade absoluta do mesmo. Com isso, diversos critérios são sugeridos na literatura para avaliação da corrosividade de solos. A resistividade do solo é um indicador comumente considerado, além da resistividade, pode-se citar a relevância do pH do solo que pode indicar, por exemplo, um processo corrosivo severo ou o favorecimento de corrosão microbiologicamente induzida (SILVA, TADEU & BRASIL, 2008). No entanto, fica demonstrada a importância da avaliação do perfil microbiano.

Conclusões

Pode-se concluir que, todos os solos apresentam condições relevantes para acarretar a CMI de aço carbono, material normalmente usado na construção de oleodutos. Numa visão geral, o solo 1 se destaca em relação aos demais pela quantidade extremamente elevada de BRS. A presença dos grupos microbianos analisados nas quantidades detectadas compromete severamente a vida útil do aço carbono, mas também do aço inoxidável. Na continuidade do estudo será avaliada a formação de biofilmes e a CMI resultante em corpos-de-prova de aço carbono e aço inoxidável. Deste modo pretende-se estabelecer como a participação dos microrganismos e a sua interrelação com o ambiente pode comprometer a vida útil dos aços carbono e inoxidável, e a severidade de cada caso.

Agradecimentos

Agência Nacional de Petróleo e FINEP – pelo apoio financeiro.

Laboratório de Biocorrosão e Biodegradação – Instituto Nacional de Tecnologia

Referências Bibliográficas

ALEF, K.; NANAPIERE, P. *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. London: Academic Press, p. 576, 1995.

BEECH, I. B.; SUNNER, J. Biocorrosion: Towards Understanding Interactions Between Biofilms And Metals. *Current opinion in Biotechnology*, v.15, p.181 – 186, 2004.

DUAN, J.; HOU, B.; YU, Z.; Characteristics of Sulfide Corrosion Products on 316L Stainless Steel Surfaces in the Presence of Sulfate Reducing Bacteria. *Materials Science and Engineering*. China, n. 26, p. 624 – 629, 2005.

GALVÃO, M. M. *Efeito do Potencial de Proteção Catódica na Corrosão Microbiologicamente Induzida*. 2008.104f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia dos Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2008.

GAYLARDE, C. C. *Biofilmes. Curso de Treinamento*. Fundação Tropical de Pesquisa e Tecnologia André Tosello. v. 1, p. 90. 1991.

HARRISON JR., A.P. Microbial Succession and Mineral Leaching in an Artificial Coal Spoil. *Applied and Environmental Microbiology*, v.131, p. 68-76, 1992.

MORAES, A.R.; CAMPAGNA, A.F.; SANTOS, S.A.M. *Programa Educar*, Universidade de São Paulo – USP (São Carlos): <http://educar.sc.usp.br>. Acessado em 20/06/2009.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. *Microbiologia e bioquímica do solo*. Lavras: Universidade Federal de Lavras, p.729, 2006.

NOGUEIRA, P. M. Estudo da Viabilidade da Utilização de Filmes de Carbono Tipo Diamante como Camada de Revestimento Interno em Dutos de Transporte de Petróleo. *Boletim Técnico PETROBRAS*, Rio de Janeiro. n 45 (2), p. 63 – 113, 2002.

POSTGATE, J.R., *The Sulphate-Reducing Bacteria*. 2^a ed., Cambridge University Press, Cambridge, England, 1984.

RESENDE, M., CURI, N., REZENDE, S.B., CORRÊA, G.F. *Pedologia – Base Para Distinção de Ambientes*. Viçosa: NEPUT, p.308, 2002.

PRIMAVESI, A. *Manejo Ecológico do solo*. São Paulo, p.549, 1999.

SILVA, J. M.; TADEU, V.; BRASIL, S. D. C. Metodologia de Avaliação da Corrosividade de Solos em Campo. In: 28º Congresso Brasileiro de Corrosão/ 2nd International Corrosion Meeting, Recife. 2008. p 165.

UENOJO, M; PASTORE, G. B. Pectinases: Aplicações industriais. *Química Nova*, Campinas, v. 30, n. 2, p. 388-394, 2007.

VAN LOORDRECHT, M. C. M., LYKLEMA, J., NORDE, W.; SEHNDER, A. J. B. Influence of Interfaces on Microbial Activity. *Microbiol. Rev.*, 54, p75-87. 1990.

ZUO, R. Biofilms: Strategies for Metal Corrosion Inhibition Employing Microorganisms. *Aplication Microbiology Biotechnology*. Boston. n. 76, p. 1245 – 1253, 2008. .