

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS

Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química



Dissertação de Mestrado

**Efeito da microbiota de solos da região de
SUAPE na corrosão de cupons de aço
carbono API 5LX60**

Aluna: Germana Arruda de Queiroz

Linha de Pesquisa: Processos Bioquímicos

Orientadores: Maria Alice Gomes de Andrade Lima

Glória Maria Vinhas

P

P

E

Q

**Efeito da microbiota de solos da região de SUAPE na corrosão de
cupons de aço carbono API 5LX60**

GERMANA ARRUDA DE QUEIROZ

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Linha de Pesquisa: Processos Bioquímicos

Área de Concentração: Biocorrosão

Orientadora: Prof^a. Dra. Maria Alice Gomes de Andrade Lima

Co-orientador: Prof. Dra. Glória Maria Vinhas

Recife/PE

Março/2011

Catálogo na fonte

Bibliotecária Rosineide Mesquita Gonçalves Luz / CRB4-1361 (BCTG)

Q3e Queiroz, Germana Arruda de.

Efeito da microbióta de solos da região de Suape na corrosão de Aço Carbono API 5LX60 / Germana Arruda de Queiroz. - Recife: O Autor, 2011.

xiv, 111f., il., figs., gráfs.; tabs.

Orientadoras: Prof^ª. Dr^ª. Maria Alice Gomes de Andrade Lima.
Prof^ª. Dr^ª. Gloria Maria Vinhas.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco. CTG.
Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, 2011.

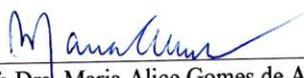
Inclui Referências Bibliográficas e Anexos.

1. Engenharia Química. 2. Corrosão. 3. Micro-organismos. 4. Aço Carbono API 5LX60. 5. Solos. I. Lima, Maria Alice Gomes de Andrade. II. Vinhas, Glória Maria. III. Título.

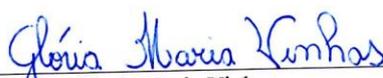
660.2 CDD (22.ed)

UFPE/BCTG-046/2011

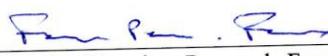
Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em 02 de março de 2011 a Banca
Examinadora constituída pelos professores:



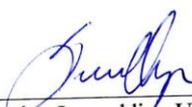
Profa.Dra. Maria Alice Gomes de Andrade Lima
Departamento de Engenharia Química da UFPE



Profa.Dra. Gloria Maria Vinhas
Departamento de Engenharia Química da UFPE



Profa.Dra. Francisca Pessoa de França
Departamento de Engenharia Bioquímica da UFRJ



Prof.Dr. Severino Leopoldino Urtiga Filho
Departamento de Engenharia Mecânica da UFPE

DEDICATÓRIA

Aos meus pais José Severino de Queiroz e Solange Arruda de Queiroz, minhas irmãs Rafaela Queiroz e Camila Queiroz e minha avó Rita Gomes de Arruda pelo incondicional apoio e incentivo em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por mais esta oportunidade de crescer profissionalmente e me fornecer uma estrutura familiar para conseguir chegar tão longe.

Aos meus pais José Severino de Queiroz e Solange Arruda de Queiroz, as minhas irmãs Rafaela Arruda de Queiroz e Camila Arruda de Queiroz, ao meu avô João Batista de Queiroz, e minha avó Rita Gomes de Arruda e meu avô José Severino de Arruda. A toda a minha Família por todo apoio, carinho e compreensão.

Aos meus orientadores Maria Alice Gomes de Andrade Lima e Glória Maria Vinhas pela orientação, dedicação, paciência e estímulo demonstrados em todos os momentos.

Aos professores, Maria de Los Angeles Palha, Olga Martins Marques e Sônia Albuquerque por seus conselhos, suporte técnico e amizade.

As técnicas e amigas do laboratório de Microbiologia, Márcia Marques de Menezes e Maria da Conceição Gomes da Silva pelo suporte técnico e amizade, tão importantes neste trabalho.

Aos Alunos de Iniciação Científica Tiago Barros Santos Malta e Jessica Simões de Andrade, muito obrigada por toda a ajuda, compreensão, amizade e troca de conhecimentos tão importantes nesta fase.

As pesquisadoras, Edivânia Lima, Magda Rosangela e Sara Horacio de Oliveira pela ajuda em todos os momentos.

A turma da biocorrosão, Pulkra Silva, Edkarlla, Gustavo Vieira, Marcos Cesar e Virgínia pela ajuda e compreensão.

A Walter Cravo e Karla pela ajuda na PUC – RJ, durante a realização de experimentos tão importantes para desenvolvimento do meu trabalho.

A Francisca Pessoa por ter me recebido tão bem em seu laboratório na UFRJ, e ter me proporcionado experiências muito boas.

Aos professores e funcionários do Departamento de Engenharia Mecânica e Engenharia Química pelo apoio e aprendizagem.

Aos meus amigos do mestrado Léa Zaidan, Danielle Pires, Daniella Carla, Diego Carpintero, Luizinho, Luciana Marques e Cristiane Marcelina.

À Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), CNPQ pelo apoio financeiro e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) e ao Programa Nacional de cooperação Acadêmica (PROCAD).

RESUMO

O estudo do solo como meio corrosivo apresenta grande importância em função do elevado número de tubulações e reservatórios instalados sob o solo. A deterioração destas estruturas metálicas representa um problema real para a economia e para o meio-ambiente com o passar dos anos. Esta deterioração, causada por interações microbiológicas e físico-químicas entre o material e o meio a que se encontra exposto, pode levar a alterações no desempenho, tornando-o inadequado para o uso e possibilitando danos associados como uma contaminação do meio causada pelo vazamento de substâncias contidas em reservatórios construídos com o material. A corrosão pelo solo responde a uma parcela considerável dos custos globais da corrosão, considerando a grande malha dutoviária existente. Neste contexto estão sendo propostos diversos trabalhos com objetivo de relacionar as propriedades do solo à corrosão dos metais enterrados. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a corrosão induzida por micro-organismos em cupons metálicos de aço carbono API 5LX60 enterrados em solos (argiloso e arenoso) da região de SUAPE (PE-Brasil). Os cupons com dimensões 25x25x3mm foram previamente jateados, tratados e pesados. Os experimentos foram conduzidos em biorreatores. As amostras de solo foram coletadas e analisadas (parâmetros físico-químicos, geotécnicos e microbiológicos) no início e no final de 100 dias do processo. As análises para quantificação dos micro-organismos do solo (bactérias heterotróficas, produtoras de ácido, anaeróbias totais, precipitantes de ferro, bactérias redutoras do sulfato (BRS), e os fungos filamentosos) foram realizadas durante todo o experimento. Neste mesmo período, também foram retirados cupons para quantificação dos micro-organismos sésseis. Posteriormente, os cupons foram analisados através de perda de massa e taxa de corrosão. A caracterização da superfície metálica foi efetuada utilizando a microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia ótica. A diversidade microbiana dos solos foi avaliada pela técnica PCR/DGGE. Conclui-se que as análises físico-químicas, microbiológicas e geotécnicas são extremamente importantes para compreender o comportamento dos solos. As taxas de corrosão no solo argiloso foram altas e severas, enquanto, que no solo de aterro, que é um solo arenoso, obteve-se um taxa de corrosão moderada. Os valores encontrados podem ser explicados pela diversidade e quantidade de micro-organismos presentes no solo argiloso que foi superior ao do solo arenoso, fato este demonstrado pelo PCR/DGGE. Através da análise de microscopia ótica foi possível identificar e quantificar os pites formados nas superfícies dos cupons, determinando como valor máximo de sua profundidade 0,0035mm no solo argiloso. Para os cupons do solo argiloso , o modelo que melhor se ajustou foi a equação de decaimento polinomial de grau três.

Palavras-chaves: corrosão, micro-organismos, aço carbono **API 5LX60**, solos.

ABSTRACT

The study of soil as corrosive medium present great importance, due to the large number of tanks and pipes installed under the floor and that its deterioration may represent a real problem for the economy and the environment over the years. The deterioration caused by physical and chemical interactions between the material and the medium by which it is exposed, can lead to changes to their performance, making it unfit for use and possible harm associated with their deterioration as medium of contamination caused by leakage of substances contained in tanks built with the material. The corrosion by soil responds to a considerable portion of overall costs of corrosion, considering the vast pipeline network exists. In this context several studies are being proposed to relate soil properties to corrosion of buried metal. This study aims to evaluate the corrosion induced by microorganisms in metal coupons **API 5LX60** buried in soils from SUAPE (PE-Brazil). The coupons with dimensions 25x25x3mm were previously sandblasted, treated and weighed. The experiments were conducted in bioreactors. Soil samples were collected and analyzed (physico-chemical, geotechnical and microbiological) at the beginning and end of 100 days of the process. Analyses for the quantification of micro-organisms in the soil (heterotrophic bacteria, acid producing, anaerobic total precipitation of iron, sulfate-reducing bacteria (SRB), and filamentous fungi) were held throughout the period. In the same period was also removed vouchers quantification of sessile microorganisms. Subsequently, the coupons were analyzed by characterization of the metal surface using scanning electron microscopy (SEM) and Optical Microscopy. The test weight loss and the evaluation of corrosion rate were performed. The microbial diversity of soils was analyzed by PCR / DGGE. We conclude that the physico-chemical, microbiological and geotechnical are extremely important to understand the behavior of soils. Corrosion rates were high in clay soil and harsh, while that in the sandy soil, we obtained a moderate rate of corrosion. The results may be explained by the diversity and quantity of micro-organisms in the clay soil is higher than the sandy soil, a fact demonstrated by PCR / DGGE. Through the analysis of optical microscopy was possible to identify and quantify the pits formed on the surfaces of the coupons, determining the maximum value of 0.0035 mm depth in clay soil. For coupons clay soil, the model that best fit was the equation of polynomial of degree three decay.

Key-words: Corrosion, microorganisms, carbon steel **API 5LX60**, soils.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ASTM	<i>American Standard for Testing and Methods</i>
BRS	Bactérias Redutoras de Sulfato
CMI	Corrosão Microbiologicamente Induzida
EPS	Exopolissacarídeos
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NMP	Número Mais Provável
OD	Oxigênio dissolvido
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
NACE	National Association of Corrosion Engineers
ppm	Partes por milhão
TC	Taxa de corrosão

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática das diferentes formas de corrosão	8
Figura 2. Mecanismo da corrosão eletroquímica	9
Figura 3. Mecanismo da corrosão eletrolítica.	9
Figura 4. Etapas envolvidas na formação e crescimento de biofilmes	18
Figura 5. Diagrama de textura adotado pela sociedade brasileira de ciência do solo	22
Figura 6. Detalhe das camadas ou horizontes no perfil do solo.....	23
Figura 7. Comparação entre solo argiloso e solo arenoso	24
Figura 8. Parâmetros que determinam a corrosividade de um solo	28
Figura 9. Produtos de PCR visto após eletroforese em gel (A) e em gel com gradiente de desnaturante (B).....	38
Figura 10. Corpo- de- prova metálico utilizado no processo.....	39
Figura 11(a) e (b). Região de Suape com solo argiloso.	41
Figura 12(a) e (b). Região de Suape com solo arenoso.....	41
Figura 13. Biorreatores com os dois tipos de solo utilizados nos experimentos.	46
Figura 14. Diagrama da vista lateral dos cupons metálicos enterrados nos biorreatores.....	46
Figura 15. Curva granulométrica por peneiramento e sedimentação de uma amostra de solo argiloso.....	64
Figura 16. Curva granulométrica por peneiramento e sedimentação de uma amostra de solo arenoso.	65
Figura 17. Perfil de concentração das bactérias e fungos na superfície e na profundidade de 1,0 m argiloso.....	67
Figura 18. Concentração das bactérias e fungos na superfície e na profundidade de 1,0m do solo arenoso.	69
Figura 19. Concentração de micro-organismos em biofilmes formados nos cupons de aço carbono API 5LX60, em função do tempo de exposição.....	71
Figura 20. Concentração de micro-organismos em biofilmes formados sobre cupons de aço carbono API 5LX60, em função do tempo de exposição.....	72
Figura 21. Perfil de crescimento microbiano e formação de biofilmes em cupons de aço carbono API5LX60 no solo argiloso.....	74

Figura 22. Taxa de corrosão dos solos arenoso e argila.....	79
Figura 23. Imagens com os pites encontrados na superfície metálica do solo argiloso; (a) e (b) Imagens dos pites em solo argiloso; (c) e (d) Imagens dos pites em solo argiloso com formação de produtos da corrosão visualizados em 10 μ m.....	81
Figura 24. As imagens (a) e (b) mostram os pites formados no solo arenoso, visualizados em 10 μ m.	82
Figura 25. Microscopias de cupons com biofilme do solo argiloso (a) aumento de 3000x (b) aumento de 11000x (c) aumento de 30000x.	84
Figura 26. Microscopias de cupons com biofilme do solo argiloso (a) aumento de 3000x (b) aumento de 11000x (c) aumento de 30000x.	84
Figura 27. Dendograma mostrando os solos argilosos e arenosos nos tempos iniciais e finais do experimento.	86
Figura 28. Modelo matemático da taxa de corrosão com o tempo de exposição dos cupons no solo argiloso.....	87
Figura 29. Quantidade de oxido de Ferro contida nos cupons metálicos em função do tempo.	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação da corrosividade do solo em função do potencial redox	32
Tabela 2. Classificação da corrosividade do solo em função da resistividade, potencial redox e teor de umidade.	33
Tabela 3. Classificação da corrosividade do solo em função da resistividade segundo Neveux.	33
Tabela 4. Parâmetros relacionados por Steinrath para avaliação da corrosividade do solo.	34
Tabela 5. Índices totais da agressividade do solo Segundo Steinrath.....	35
Tabela 6. Parâmetro utilizado no índice de Steinrath modificado, onde o potencial redox e substituído pela concentração de BRS	35
Tabela 7. Composição química dos cupons aço carbono API 5LX60.....	40
Tabela 8. Classificação da taxa de corrosão do aço carbono.	58
Tabela 10. Ensaio de caracterização, peneiramento e permeabilidade.	66
Tabela 11. Avaliação da agressividade dos solos baseada no Índice de Steinrath.	76
Tabela 12. Avaliação da agressividade dos solos baseando-se no Índice de Steinrath Modificado.	77

SUMÁRIO

RESUMO	V
ABSTRACT	VI
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	VII
LISTA DE FIGURAS	VIII
LISTA DE TABELAS	X
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 Corrosão	4
3.2 Danos causados pela corrosão	5
3.3 Custo da Corrosão	6
3.4 Tipos de Corrosão	7
3.5 Corrosão Microbiologicamente Induzida (CMI)	10
3.5.1 Principais grupos de micro-organismos relacionados à corrosão	10
<input type="checkbox"/> Bactérias precipitantes do ferro:	11
<input type="checkbox"/> Bactérias produtoras de exopolissacarídeos:	12
<input type="checkbox"/> Bactérias aeróbias produtoras de ácidos:	13
<input type="checkbox"/> Bactérias redutoras de sulfato (BRS):	13
<input type="checkbox"/> Fungos Filamentosos	14
3.6. Mecanismos Gerais da Corrosão Microbiologicamente Induzida	15
3.6.1. Produção de metabólitos corrosivos	15
3.6.2. Criação de pilhas de aeração diferencial	16
3.6.3. Despolarização catódica	16
3.6.4. Destruição de películas protetoras sobre a superfície do metal	17
3.7. Biofilmes	17

3.8. Detecção e monitoramento da CMI	19
3.8.1. Métodos microbiológicos	20
3.8.2. Análises físico-químicas.....	20
3.8.3. Métodos eletroquímicos	20
3.9. Solos	21
3.9.1. Solo argiloso	22
3.9.2. Solo Arenoso.....	24
3.10. Corrosividade dos solos	24
3.11. Características Microbiológicas	26
3.12. Características físico-químicas do solo	28
3.12.1. Teor de umidade.....	29
3.12.2. Capacidade de retenção de água (CRA).....	29
3.12.3. Resistividade elétrica.....	30
3.12.4. Potencial redox.....	30
3.12.5. Potencial de hidrogênio (pH).....	31
3.12.6. Sais solúveis.....	31
3.13. Avaliação da corrosividade do solo	32
3.14. Índice de Steinrath	34
3.15. Ecologia Microbiana Molecular	36
3.15.1. Extração do DNA.....	36
3.15.2. PCR (Reação em Cadeia de Polimerase).....	36
3.15.3. DGGE (Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante).....	37
4. MATERIAIS E MÉTODOS	39
4.1. Corpos-de-prova	39
4.2. Solos do processo	40
4.2.1. Amostragens dos solos	41
4.3. Análises físico-químicas dos solos	42

4.3.1.	As análises físico-químicas realizadas no LAMSA:	42
4.3.2.	Capacidade de Retenção de Água (CRA).....	42
4.3.3.	Resistividade	43
4.3.4.	Umidade.....	44
4.3.5.	Potencial redox.....	44
4.3.6.	Determinação do Sulfeto	44
4.4.	Caracterização geotécnica	45
4.4.1.	Ensaio de caracterização.....	45
4.5.	Etapa experimental.....	45
4.5.1.	Sistema Utilizado	45
4.6.	Quantificação celular	47
4.7.	Quantificação dos micro-organismos dos solos.....	47
4.8.	Avaliação da formação do biofilme	47
4.9.	Quantificação dos micro-organismos sésseis.....	47
4.10.	Teste em Branco.....	48
4.11.	Crescimento microbiano e formação de biofilmes.....	48
4.12.	Análises microbiológicas.....	48
4.12.1.	Bactérias heterotróficas aeróbias.....	49
4.12.2.	Bactérias precipitantes do ferro.....	49
4.12.3.	Bactérias anaeróbias totais.....	50
4.12.4.	Bactérias redutoras de sulfato (BRS)	52
4.12.5.	Bactérias produtoras de ácidos.....	53
4.12.6.	Fungos filamentosos.....	53
4.13.	Avaliação da Diversidade Microbiana nos Solos	54
4.13.1.	Extração de DNA total das amostras de solo.....	54
4.13.2.	Amplificação do rRNA 16S.....	55
4.13.2.1.	Bactéria.....	55

4.13.3. DGGE	56
4.14. Análises de caracterização das superfícies metálicas.....	56
4.14.1. Microscopia Eletrônica de varredura (MEV)	56
4.14.2. Avaliação de corrosão localizada (Pite)	57
4.15. Taxa de corrosão através do método gravimétrico ou Ensaio de perda de massa.	57
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
5.1. Análises físico-químicas do solo.....	60
5.2. Análises geotécnicas do solo.....	64
5.3. Experimentos com cupons de aço carbono API 5LX60.....	67
5.3.1. Quantificação dos micro-organismos do solo.....	67
5.3.2. Quantificação dos micro-organismos sésseis	70
5.4. Cinética de formação dos biofilmes nos cupons de aço carbono API5LX60 no solo argiloso	73
5.5. Avaliação da corrosividade dos solos	75
5.6. Monitoramento da taxa de corrosão dos cupons API 5LX60.....	78
5.7. Análises de caracterização das superfícies metálicas para o aço carbono API 5LX60.....	79
5.7.1. Avaliação da corrosão por pites	80
5.7.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	83
5.8. Avaliação de estrutura da diversidade microbiana em amostras de solos com o uso da técnica do PCR/DGGE	85
5.8.1. Extração do DNA	85
5.8.2. PCR16S	85
5.8.3. DGGE	85
5.9. Modelos matemáticos para a taxa de corrosão	86
6. CONCLUSÕES	89
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91
ANEXO I.....	106

1. INTRODUÇÃO

O transporte de fluidos por dutos é o principal meio utilizado pelas companhias de petróleo, gás e saneamento. A corrosão de tubulações enterradas pode resultar na sua ruptura, causando severos danos ambientais e perdas econômicas. A corrosão de estruturas enterradas é um sistema de difícil manipulação, pois são influenciadas por diversos fatores tais como: tipo de material utilizado na fabricação do duto, características químicas e microbiológicas do solo, do revestimento, ação de correntes de interferência e as propriedades químicas e físicas dos solos que mudam constantemente com o tempo e a profundidade (ALBERTINI, 2008; RODRIGUES, 2006).

Estudos de corrosão são conduzidos com o intuito de propor alternativas de controle, prevenção e tratamento e interrupção de danos mais sérios. Estes estudos são temas constantes de trabalhos envolvendo a interação de solos e dutos (GARDINER e MELCHERS, 2002; BRADFORD, 2000; KIM e KIM, 2001; PALMER, 1989).

A corrosão é um processo destrutivo que causa danos em quase todos os setores industriais. A consequência desses danos pode ser apenas de ordem econômica, acarretando prejuízos financeiros devido à manutenção ou substituição de materiais corroídos. Em outros casos, a corrosão pode ocasionar graves acidentes com consequências serias, tanto para a preservação da natureza quanto do homem, como, por exemplo, perfuração de tubulação de condução de gases combustíveis podendo causar incêndio ou contaminação, queda de pontes e viadutos.

A corrosão sendo, em geral, um processo espontâneo está constantemente transformando os materiais metálicos, diminuindo a durabilidade e desempenho dos equipamentos deixando de satisfazer aos fins a que se destinam. Segundo NUNES (2007), o gasto com corrosão no Brasil corresponde ao índice de 3,5% do Produto Interno Bruto (PIB), ou seja, cerca de R\$45 milhões.

A maioria das estruturas metálicas utilizadas nas tubulações enterradas é construída em aço carbono, que é um material relativamente barato. O aço carbono pode ser encontrado comercialmente em uma diversidade de formas e com ampla gama de propriedades tais como: alta resistência a impactos, ductibilidade e facilidade de soldagem, sendo desta forma largamente empregado (SILVA, 2009). Apesar das vantagens citadas, o aço carbono apresenta, em geral, baixa resistência à corrosão.

O acúmulo de micro-organismos e seus derivados metabólicos na superfície de metais podem não apenas iniciar como acelerar os processos corrosivos. Segundo Rocha (2001) os micro-organismos crescem em quaisquer locais, desde que existam nutrientes e água necessários ao seu desenvolvimento.

A corrosão de matérias metálicas na presença de micro-organismos é denominada de Corrosão Microbiologicamente Induzida (CMI) ou biocorrosão. A CMI pode envolver uma quantidade significativa de micro-organismos e mecanismos, associada geralmente à formação de depósitos biológicos ou biofilmes na superfície do material, acarretando problemas como a perda de eficiência de equipamentos, redução da capacidade de troca térmica e contaminação de águas (GENTIL, 2007; SRINIVASAN *et al.*, 1995; BEECH *et al.*, 2005).

Em tubulações enterradas nos solos contendo sulfato observa-se a ocorrência de corrosão por micro-organismos, destacando-se as Bactérias Redutoras do Sulfato (BRS), as Oxidantes do Ferro, as Oxidantes de Enxofre, além das formadoras de exopolissacarídeos e alguns tipos de algas e fungos. Estes micro-organismos podem influir diretamente na velocidade de reações anódicas e catódicas, formando pilhas de aeração diferencial pelo aparecimento de tubérculos e originando meios corrosivos através do seu metabolismo (GENTIL, 2007).

Mesmo as tubulações enterradas em profundidade (meio desaerado) também podem sofrer corrosão acentuada, desde que o solo apresente umidade. Desta forma, é promovido o crescimento de bactérias que utilizam em seu metabolismo o hidrogênio, seja livre ou combinado a compostos orgânicos, como as bactérias redutoras de nitrato, de dióxido de carbono e de sulfato (GENTIL, 2007).

Neste contexto, a problemática causada pela deterioração dos metais é tema de investigação na comunidade científica e tecnológica, em especial para os materiais metálicos que tem o solo como meio corrosivo.

2. OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar o efeito da microbiota dos solos argiloso e arenoso da região do complexo portuário de SUAPE (Refinaria Abreu e Lima) na corrosão de cupons de aço carbono API 5LX60.

Dentre os objetivos específicos pode-se destacar:

- ✓ Quantificação dos grupos microbianos dos solos e cupons;
- ✓ Avaliação da corrosividade do solo;
- ✓ Avaliação da formação do biofilme;
- ✓ Análise das superfícies dos cupons metálicos por MEV;
- ✓ Avaliação dos pites formados na superfície metálica;
- ✓ Avaliação da taxa de corrosão durante os processos através de dados de perda de massa;
- ✓ Modelagem da taxa de corrosão;
- ✓ Avaliação de Diversidade Microbiana em Amostras de Solos pela Técnica do PCR/DGGE;

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Corrosão

A corrosão é um processo de deterioração química natural que resulta da inerente tendência dos metais reverterem para sua forma mais estável. A maioria dos metais é encontrada na natureza na forma de compostos estáveis como óxidos, sulfetos, silicatos etc. Durante o processo de extração e refino, é adicionada uma determinada quantidade de energia aos minérios para extrair o metal ou metais neles contidos. É esta mesma energia que possibilita o aparecimento de forças capazes de reverter o metal a sua forma primitiva de composto mais estável (NÓBREGA *et al.*, 2003).

Como esclarece PIMENTA (2002), nos processos de corrosão, os metais reagem com os elementos não metálicos presentes no meio, O₂, S, H₂S, CO₂ entre outros, produzindo compostos semelhantes aos encontrados na natureza, dos quais foram extraídos.

A definição mais ampla para a corrosão é a destruição de uma substância ou de suas propriedades devido a uma reação química com o meio ambiente (FURTADO, 2010). No entanto Gentil (2007) apresenta uma definição mais completa na qual a corrosão é a deterioração de um material, geralmente metálico, por ação química ou eletroquímica do meio ambiente aliada ou não a esforços mecânicos. A deterioração, causada por interações físico-químicas entre o material e o meio a que se encontra exposto, pode levar a alterações prejudiciais ao seu desempenho, tornando-o inadequado para o uso e possibilitando danos associados a sua deterioração, como uma contaminação do meio causada pelo vazamento de substâncias contidas em reservatórios construídos com o material. Uma situação particular seria o da corrosão induzida pelo solo de estruturas metálicas enterradas.

3.2 Danos causados pela corrosão

A corrosão prejudica peças, equipamentos, instalações e esses danos, em seus múltiplos aspectos podem ocorrer através de:

Paralisação de equipamentos para manutenção ou reposição de peças danificadas com significados diferentes se trabalha isolados ou em conjunto (linha de montagem, por exemplo);

✓ Perda de produtos, por vazamentos ou contaminação, na fabricação, no transporte ou na armazenagem;

✓ Poluição devido a escape de produtos indesejáveis e os que são lançados fora, em situação de emergência, por causa de equipamento corroído;

✓ Redução na eficiência operacional dos equipamentos;

✓ Exigência de superdimensionamento nos equipamentos, com grande ônus para os usuários;

✓ Exigência de revestimentos protetores em equipamentos;

✓ Problemas de diversos tipos com segurança (acidentes pessoais, incêndios, explosões e mortes);

✓ Exigências de manutenção preventiva, como repintura, por exemplo;

✓ Garantia de qualidade e durabilidade, envolvendo o bom nome do fabricante. Materiais corroídos são desagradáveis de se ver (FURTADO, 2010).

Ainda de acordo com Furtado (2010), existem muitos motivos para se querer evitar a corrosão. Entre os setores mais seriamente atingidos, podem ser citadas diversas atividades industriais tais como:

- **Mineração:** Minerodutos de minérios de ferro, de fosfatos etc. e seus equipamentos

- **Metalurgia:** A produção e a transformação dos metais e suas ligas;

- **Petrolífera:** Extração, Transporte, refinação e distribuição;

- **Química:** Produção, armazenamento e distribuição;
- **Automotiva:** no funcionamento de seus produtos;
- **Construção Civil:** pontes, estruturas etc.;
- **Alimentação e bebidas:** produção e armazenamento;
- **Tecnologia Nuclear:** reatores, trocadores de calor etc.

3.3 Custo da Corrosão

O custo da corrosão vem de diversas fontes: substituição dos equipamentos e componentes corroídos; custo da produção interrompida (para trocas e reparos) ou reduzida; perdas de parte da produção; diminuição da vida útil dos equipamentos e das medidas necessárias para evitar ou prevenir a corrosão (FURTADO, 2010),

Atualmente, a corrosão ocupa uma posição de destaque na sociedade uma vez que o custo das perdas econômicas causadas pelo processo chega ao Brasil a cerca de 35 bilhões de reais por ano. Vale ressaltar que cerca de 2% da tonelagem de metais usados em todo o mundo é destruída pela corrosão e que cerca de 25% da produção anual de aço destina-se a substituir as peças destruídas pela corrosão (FURTADO, 2010). Não existe nenhum levantamento que correlacione os custos da corrosão química e microbiológica.

É de extrema importância neste contexto definir as estratégias que possibilitem o controle ou a prevenção da corrosão nas diferentes indústrias. Para isto é necessário que seja realizado um levantamento das características físicas e químicas do ambiente ao qual o material será exposto, e em especial, da microbiota nele existente. A concentração, tipo e atividade dos micro-organismos presentes podem interferir intensamente nas formas de prevenção do processo corrosivo, inviabilizando desta forma a sua aplicação ou tornando-a ineficiente (VIDELA, 2003). Sendo assim, os estudos conduzidos neste âmbito auxiliariam uma melhor compreensão dos processos envolvidos e conseqüentemente, subestimaria os altos gastos empreendidos com o controle da biocorrosão.

3.4 Tipos de Corrosão

Segundo FERREIRA *et al.* (2002) os tipos de corrosão podem ser apresentados considerando-se a aparência ou forma de ataque, bem como as diferentes causas da corrosão e seus mecanismos:

– Morfologia: uniforme, por placas, alveolar, puntiforme ou por pite, intergranular (ou intercristalina), intragranular (ou transgular ou transcristalina), filiforme, por esfoliação, grafítica, desincificação, em torno do cordão de solda e empolamento pelo hidrogênio;

– Causas ou mecanismos: por aerações diferenciais, eletrolíticas ou por correntes de fuga, galvânica, associada às solicitações mecânicas (corrosão sob tensão fraturante), em torno de cordão de solda, seletiva (grafítica e desincificação), empolamento ou fragilização pelo hidrogênio;

– Fatores mecânicos: sob tensão, sob fadiga, por atrito, associada à erosão;

– Meio corrosivo: atmosférica, pelo solo, induzida por micro-organismos, pela água do mar, por sais fundidos, etc.;

– Localização do ataque: por pite, uniforme, intergranular, transgranular, etc.

A característica da forma de corrosão auxilia bastante no esclarecimento do mecanismo e na aplicação de medidas adequadas de proteção. A Figura 1 mostra as diferentes formas de corrosão.

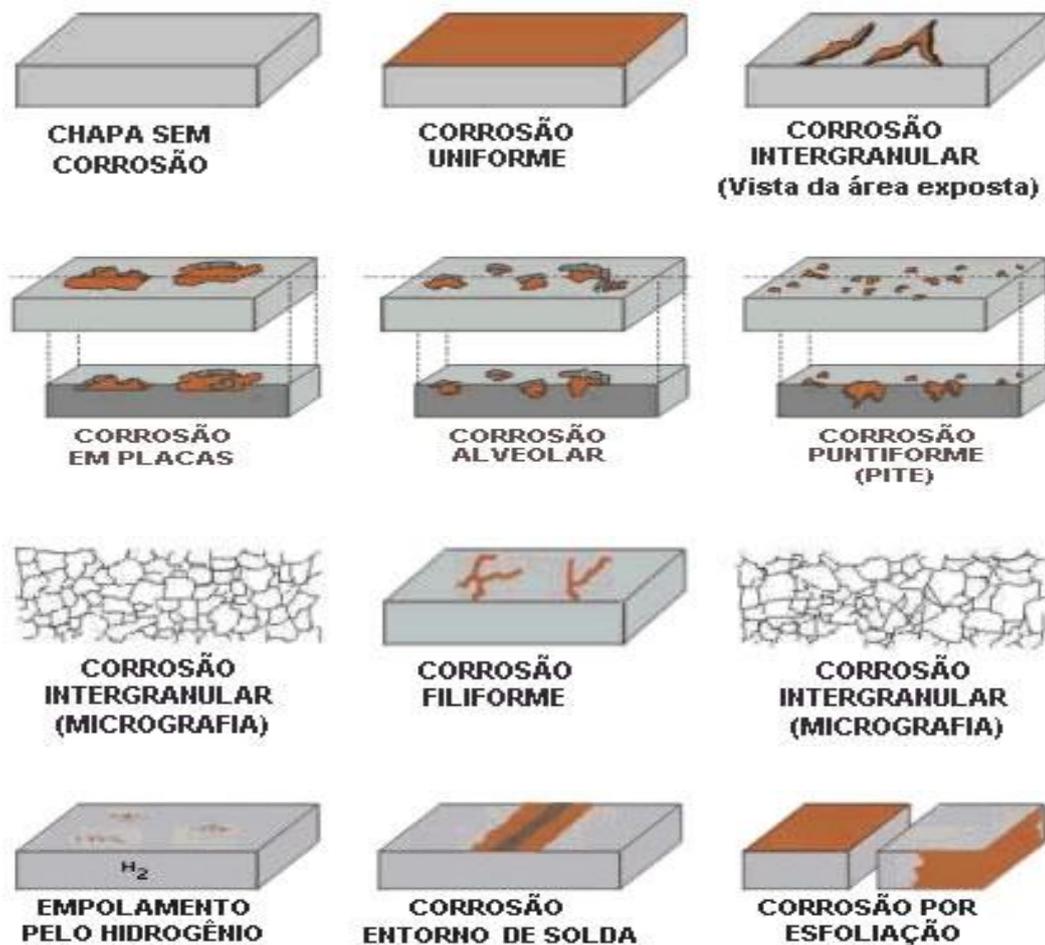


Figura 1. Representação esquemática das diferentes formas de corrosão (FERREIRA *et al*, 2002).

As estruturas metálicas enterradas em solos agressivos ou submersas, sejam em águas doces ou salgadas, podem estar expostas à corrosão eletroquímica ou à corrosão eletrolítica.

Segundo MAINIER (2002) a corrosão eletroquímica é um processo espontâneo, passível de ocorrer quando o metal ou liga está em contato com um eletrólito, onde acontecem, simultaneamente, as reações anódicas e catódicas. A transferência dos elétrons da região anódica para a catódica é feita por meio de um condutor metálico, e uma difusão de ânions e cátions na solução fecha o circuito elétrico. A intensidade do processo de corrosão é avaliada pelo número de cargas de íons que se descarregam no catodo ou, então, pelo número de elétrons que migram do anodo para o catodo. As reações anódicas e catódicas envolvidas, bem como um aspecto deste processo corrosivo, são apresentadas na Figura 2.

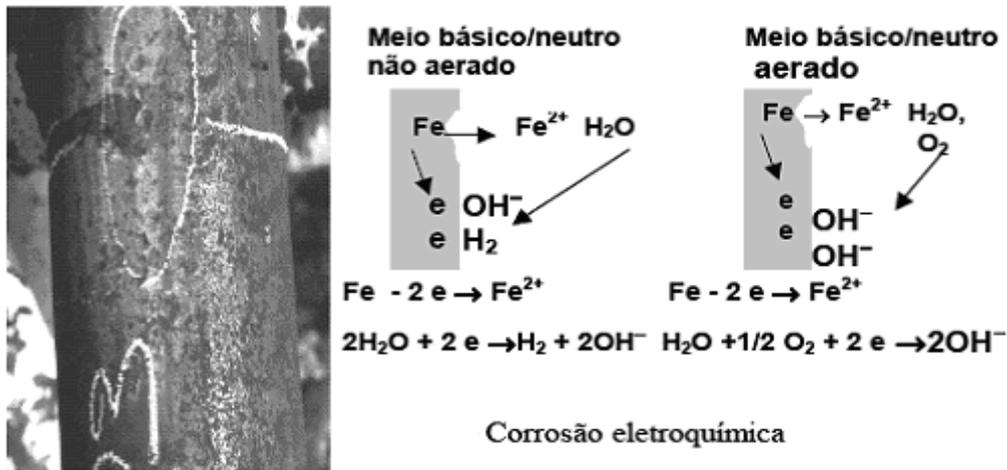


Figura 2. Mecanismo da corrosão eletroquímica (Fonte: MAINIER, 2002).

Já a corrosão eletrolítica se caracteriza por ser um processo eletroquímico, que se dá com aplicações de corrente elétrica externa. Isto significa que é um processo não espontâneo de corrosão. Ela é provocada por correntes de fuga, também chamadas de parasitas ou estranhas. Este fenômeno ocorre com frequência em gasodutos, em oleodutos, em adutoras de água potável, em cabos telefônicos enterrados, em tanques de postos de gasolina, etc. Geralmente, estas correntes são devidas às deficiências de isolamentos ou de aterramentos, fora de especificações técnicas. Normalmente, acontecem furos isolados nas instalações, onde a corrente escapa para o solo, conforme mostra o mecanismo proposto na Figura 3, que mostra grandes alvéolos externos, localizados e com penetração total das paredes dos tubos (MAINIER, 2002).

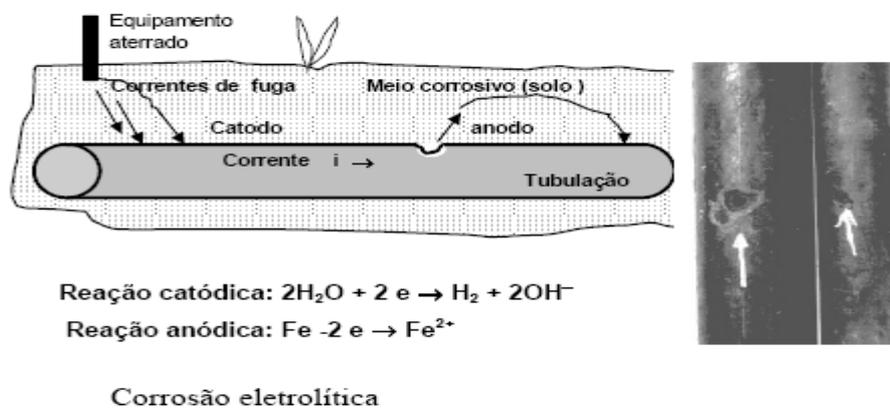


Figura 3. Mecanismo da corrosão eletrolítica Fonte: (MAINIER, 2002).

3.5 Corrosão Microbiologicamente Induzida (CMI)

Em muitos casos a deterioração de um material é ocasionada pela influência dos micro-organismos e o processo é denominado de Corrosão Microbiologicamente Induzida (CMI) ou Biocorrosão (VIDELA, 2003).

As bactérias são os principais micro-organismos causadores do processo embora existam exemplos de corrosão atribuídos a fungos e algas (GENTIL,2007). Os micro-organismos envolvidos iniciam, facilitam ou aceleram o processo corrosivo, mantendo a natureza eletroquímica do processo (NAGIUB & HERRERA, 2002). Segundo VIDELA & HERRERA (2005) vai ocorrer uma dissolução metálica no anodo e um processo complementar no catodo, o qual poderá transcorrer através de algumas reações catódicas possíveis, tais como: redução de oxigênio (em meio aerado e pH próximo a neutralidade) ou redução de hidrogênio (em meio ácido não aerado). A CMI é resultado de interações entre a superfície do metal, produtos abióticos de corrosão (FeS, Fe(OH)₃, Fe₂O₃, etc), as células microbianas, material polimérico extracelular (EPS), ácidos orgânicos e outros metabólitos (BEECH,2004).

3.5.1 Principais grupos de micro-organismos relacionados à corrosão

Dentre os grupos de bactérias envolvidas no processo sobressaem-se as bactérias precipitantes do ferro, produtoras de ácidos, produtoras de exopolissacarídeos (*Pseudomonas aeruginosa*) e as bactérias redutoras de sulfatos (BRS) (OLIVEIRA, 2010).

As bactérias com metabolismo aeróbio são consideradas as primeiras a formarem o biofilme e são responsáveis pelo fornecimento de condições ideais para as bactérias anaeróbias, por consumirem todo o oxigênio ao longo do tempo..

As bactérias aeróbias mais relacionadas aos processos de corrosão são: bactérias oxidantes do enxofre, precipitantes do ferro, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia*, entre outras (OLIVEIRA, 2010). As principais características destes grupos serão descritas a seguir:

- **Bactérias precipitantes do ferro:**

Este grupo tem em comum a capacidade de oxidar o íon ferroso (Fe^{++}) a férrico (Fe^{+++}) como forma de obter energia. O resultado dessa oxidação é geralmente hidróxido férrico precipitado. Desenvolvem-se no intervalo de temperatura entre 0 a 40°C, sendo faixa ótima entre 6 e 25°C e no intervalo de pH entre 5,5 a 8,2°C (GENTIL, 2003).

As bactérias precipitantes do ferro possuem bainhas perpendiculares aos eixos das células, que dependendo das espécies podem ser constituídas por hidróxidos de ferro ou matriz orgânica impregnada com óxido de ferro e magnésio. Quando estas bainhas se desprendem da bactéria, aumentam a quantidade de sólidos em suspensão no meio (VIDELA 2003; VIANA, 2009).

As espécies mais conhecidas envolvidas com a biocorrosão pertencem aos gêneros *Gallionella*, *Siderophacus*, *Sphaerotilus*, *Leptothrix*, *Crenothrix* e *Clonothrix*. Todos os gêneros possuem espécies com características morfológicas e metabólicas diferenciadas. Como exemplo, a espécie *Gallionella ferrugínea* que tem metabolismo autotrófico, necessidade de baixas concentrações de oxigênio, e difícil isolamento em laboratório; ao contrário da *Sphaerotilus natans*, que necessita de considerável quantidade de oxigênio e a facilidade de ser isolada em laboratório (OLIVEIRA, 2010).

Estas bactérias participam do processo corrosivo devido a depósitos formados pela sua ação, gerando células de aeração diferencial e facilitando a atuação das bactérias redutoras de sulfato. Por um primeiro mecanismo, os sais ferrosos se oxidam removendo oxigênio da água, causando condições anaeróbicas no fundo dos depósitos, viabilizando desta forma a ação das BRS. Por um segundo mecanismo, em áreas de baixa concentração de oxigênio, as bactérias convertem o íon ferroso em férrico, precipitando-o como hidróxido férrico, na superfície do metal, isolando-a do contato com o oxigênio. Isto produz uma célula de aeração diferencial, causando a corrosão sob o depósito (CORRÊA, 2003).

Os depósitos provenientes destes micro-organismos provocam entupimentos na indústria extrativa de petróleo, diversos problemas nos sistemas de águas industriais e redução da permeabilidade do solo (VIDELA, 2003).

- **Bactérias produtoras de exopolissacarídeos:**

A produção de exopolissacarídeos microbianos (EPS) pode ser realizada com espécies de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, algumas microalgas e fungos (OLIVEIRA,2010). A composição do EPS varia em função da espécie, da estirpe e das condições de crescimento, incluindo a composição do meio, o teor de oxigênio, de carbono, a osmolaridade, o pH e a idade do biofilme. Em ambientes onde há baixa disponibilidade de carbono, oxigênio e estresse hídrico, a produção de EPS é estimulada (STEINBERGER E HOLDEN, 2004).

EPS são compostos principalmente de polissacarídeos, ácidos urônicos, açúcares e proteínas, contendo grupos funcionais como ácidos carboxílicos e aminoácidos, que podem ser ácidos e capazes de formar ligações com íons metálicos. Assim, o EPS também pode afetar as características eletroquímicas da superfície do metal, desempenhando um papel importante na corrosão dos metais (CHRISTENSEN; CHARACKLIS, 1990).

O EPS é considerado fundamental para o início e manutenção da corrosão, e é responsável pela agregação dos micro-organismos presentes no biofilme, conferindo-os maior resistência à ação de agentes químicos e físicos. A resistência aos agentes químicos está relacionada ao caráter aniônico de muitos polissacarídeos, que propicia o aprisionamento de cátions presentes em muitos compostos químicos, diminuindo a concentração destes compostos no meio e, portanto, atenuando a ação biocida aos micro-organismos presentes (VIANA, 2009).

Os gêneros das bactérias produtoras de exopolissacarídeos que mais interessam para o estudo da corrosão são: “*Pseudomonas*”, “*Flavobacterium*”, “*Escherichia*”, “*Aerobacter*” e “*Bacillus*”. Estes micro-organismos operam formando densas massas que isolam a superfície do metal do contato com oxigênio, propiciando o surgimento da corrosão por diferença de aeração, e/ou, favorecendo a atuação das bactérias redutoras de sulfato (CORRÊA, 2003). Segundo SCOTTO (1993), *Clostridium* spp., *Flavobacterium* spp., *Bacillus* spp., *Desulfovibrio* spp., *Desulfotomaculum* spp., e *Pseudomonas* spp também podem produzir EPS e já foram isolados em processos corrosivos de aços inoxidáveis.

- **Bactérias aeróbias produtoras de ácidos:**

Existem várias bactérias heterotróficas que apresentam a capacidade de produzir ácidos orgânicos de cadeia curta, tais como, ácido fórmico, acético, láctico, propiônico, butílico e úrico. As bactérias produtoras de ácido estão diretamente relacionadas à biocorrosão pela produção de substâncias corrosivas. Nos últimos anos estes micro-organismos vêm recebendo uma atenção especial devida a sua relação com as BRS. Os ácidos secretados pelas bactérias produtoras de ácidos podem ser metabolizados pelas BRS. Assim, o efeito sinérgico desses dois grupos de bactérias pode intensificar a biocorrosão (BOGAN et al., 2004).

Dentre este grupo bactérias pode-se destacar o gênero *Acidithiobacillus* que são micro-organismos aeróbios que se apresentam na forma de bacilos curtos, com cerca de 0,5 μm de diâmetro e de 1,0 a 3,0 μm de comprimento. Possuem mobilidade própria, por meio de um único flagelo polar, não formam esporos e se apresentam geralmente como células isoladas. Sua temperatura ótima de crescimento situa-se entre 10 e 37°C, mas algumas variedades termófilas são capazes de crescer em temperaturas superiores a 55°C. Desenvolvem-se em água do mar ou de rio, de acordo com as características halofílicas das espécies. O *Acidithiobacillus thiooxidans* é capaz de oxidar 31g de enxofre por grama de carbono, causando uma elevada acidez no meio (aproximadamente pH 0,5) devido à produção metabólica de ácido sulfúrico (VIDELA, 2003). Essa elevada acidez pode conferir grande agressividade ao ambiente, não apenas para superfícies metálicas, mas também para estrutura de pedra e de concreto (WARCHEID e BRAAMS, 2000). Outras espécies bacterianas podem produzir ácidos inorgânicos como o ácido nítrico (*Nitrobacter* e *Pseudomonas*), ácido nitroso (*Nitrosomonas*) e ácido sulfídrico (BRS e *Clostridium*) (VIDELA, 2003).

- **Bactérias redutoras de sulfato (BRS):**

As BRS compreendem vários grupos de bactérias que utilizam o sulfato como agente oxidante, reduzindo-o a sulfeto. A maioria podem também utilizar compostos de enxofre oxidados tais como o sulfito e o tiosulfato ou enxofre elementar. A maioria das informações sobre a diversidade de BRS em ambientes naturais tem sido obtida pela

utilização de genes marcadores. O gene mais comumente utilizado é o que codifica RNA 16S ribossomal (rRNA) (LEU *et al.*,1998; SCHEID & STUBER ,2001). As análises de RNAr 16S permitiram organizar as espécies de BRS em quatro grupos distintos: (1) BRS mesófilas Gram negativas não formadoras de esporos, (2) BRS Gram positivas formadoras de esporos, (3) BRS termófilas e (4) BRS Arqueobactéria termófila (CASTRO *et al.*, 2000).

A maioria das BRS é classificada como mesófila, com um ótimo de crescimento entre 25 e 40°C, mas algumas espécies podem tolerar até -5°C (psicrofílicas), enquanto outras podem apresentar crescimento ótimo em temperaturas superiores a 75°C (hipertermofílicas). Com relação aos valores de pH, crescem em valor ótimo de 7,2; entretanto, encontram-se espécies que toleram ambientes altamente ácidos (pH 4,0) e alcalinos (pH 9,5). Deve-se destacar ainda a capacidade das BRS suportarem altas pressões, como valores em torno de 105 kPa (espécies barofílicas). Todas essas características demonstram a habilidade desse grupo de micro-organismos para crescer em condições extremas e sua adaptabilidade a vários ambientes naturais (POSTGATE, 1984; BARTON e TOMEI, 1995).

As BRS constituem um grupo de micro-organismos amplamente distribuídos na natureza e em muitos ambientes anaeróbios, têm um papel importante no ciclo biogeoquímico do enxofre e na degradação da matéria orgânica em diferentes ambientes anaeróbios. GALL e XAVIER (1996) demonstraram que as BRS não são estritamente anaeróbias. Certas espécies têm a capacidade de tolerar a presença de oxigênio no meio e também de utilizar o oxigênio como aceptor final de elétrons, como acontece na respiração aeróbia (SASS *et al.*, 1997; FARELEIRA *et al.*, 2003).

- **Fungos Filamentosos**

Os fungos são micro-organismos eucarióticos, heterotróficos que possuem parede celular rígida, constituída por polissacarídeos. Crescem em ambientes que não são tolerados pelas bactérias (baixa umidade e pH ácido). Necessitam de menores concentrações de nitrogênio que as bactérias e são capazes de crescer em ambientes anaeróbicos (VIDELA, 2003).

A maioria dos fungos requer oxigênio para seu crescimento e obtém energia a partir de carboidratos. Como resultado do metabolismo oxidativo, produzem vários ácidos orgânicos, tais como ácido cítrico, oxálico, glucônico, que podem ser corrosivos a superfícies metálicas (GONÇALVES, 2002; JUZELIUNAS *et al.*, 2007).

Little *et al.* (2001) citam a corrosão de aço carbono devido à produção de metabólitos ácidos e dióxido de carbono pelos *Aspergillus niger* e *Penicillium sp.* Além disso, os fungos podem contribuir para o aumento da espessura do biofilme. Convém enfatizar que estes organismos devido às propriedades dos componentes da parede celular podem acelerar o processo de corrosão através da bioadsorção de metais dissociados.

Videla (2003) também relata a presença de espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Trichosporon* e *Fusarium* em associação com *Hormoconis resinae* em tanques e condutos de alumínio de aviões a jato, sendo esta última espécie de maior importância. A utilização de querosene por estes micro-organismos resultou na geração de metabólitos que foram considerados responsáveis pela corrosão.

3.6. Mecanismos Gerais da Corrosão Microbiologicamente Induzida

O processo pode ocorrer por diferentes mecanismos:

3.6.1. Produção de metabólitos corrosivos

Durante o seu crescimento e metabolismo os micro-organismos são capazes de sintetizar e secretar ácidos (orgânicos e inorgânicos) e outras substâncias de natureza corrosiva (VIDELA, 2003). Os ácidos ao entrarem em contato com a superfície metálica podem destruir a camada de passivação da superfície metálica acelerando a corrosão.

3.6.2. Criação de pilhas de aeração diferencial

A associação de espécies diferentes de micro-organismos, que consomem quantidades desiguais de oxigênio, estabelece condições de aeração diferencial, proporcionando um ambiente adequado para o crescimento de micro-organismos aeróbios e anaeróbios. Além disso, não havendo um filme uniforme sobre toda a superfície do metal, ou liga imersa, este será um gerador de células de aeração diferencial em potencial.

Com a formação da célula de corrosão, ocorre o desenvolvimento de tubérculos na área anódica, constituído de produtos de corrosão e micro-organismos, que criam condições propícias para a corrosão localizada, em geral formando pites. Com o crescimento dos pites ocorrem reações catódicas, com a formação de íons hidroxila, e reações anódicas, com a formação de íons Fe^{2+} , no caso da corrosão do ferro, ou de materiais metálicos que o contenham na sua composição (GONÇALVES, 2002).

3.6.3. Despolarização catódica

Em meios desaerados, como águas ou solos úmidos, o ferro normalmente não sofre corrosão apreciável, mas algumas vezes, nestas mesmas condições observam-se casos de corrosão. A explicação para este fenômeno está em bactérias anaeróbias capazes de utilizar, em seu metabolismo, hidrogênio livre (como o hidrogênio catódico) ou hidrogênio combinado de compostos orgânicos. Entre estas, estão às bactérias redutoras de sulfato (BRS), as redutoras de dióxido de carbono e as redutoras de nitrato (GENTIL, 2007).

A reação fundamental na qual as bactérias atuam consiste no consumo de hidrogênio que é depois utilizado para efetuar a redução dos íons sulfato havendo, portanto uma participação direta dos micro-organismos na reação que conduz ao processo de corrosão (VIDELA, 2003).

3.6.4. Destruição de películas protetoras sobre a superfície do metal

Os metabólitos produzidos pelas bactérias podem degradar recobrimentos existentes na superfície metálica contribuindo para a corrosão. O consumo dos produtos de degradação desses recobrimentos pela população microbiana presente no biofilme, pode ainda intensificar a corrosão.

Alternativamente, outros micro-organismos que não possuem atuação direta na corrosão, podem se envolver na ruptura dos materiais protetores, que recobrem a superfície do metal pela liberação dos gases formados por eles, ocasionando a formação de bolhas, que levam à ruptura da película protetora (GONÇALVES, 2002).

Todos os mecanismos da biocorrosão envolvem a formação de biofilmes, sendo fundamental o conhecimento da sua formação e desenvolvimento para poder controlá-lo (SIMÕES, 2005).

3.7. Biofilmes

Os micro-organismos sésseis (aderidos a uma superfície metálica ou não) são os maiores responsáveis pelos danos que sofrem os materiais quando comparados aos micro-organismos planctônicos (livres no eletrólito) (JEFREY & MELCHERS, 2003). Os micro-organismos aderidos induzem alterações físico-químicas que podem ser em condições aeróbias ou anaeróbias, sendo a modificação da interface metal-solução decorrente da formação de biofilme a mais significativa (VIDELA & HERRERA, 2005).

O termo biofilme surgiu para descrever a forma de vida sésseis que se caracteriza, essencialmente, pela adesão de bactérias a suportes sólidos, com conseqüente produção de substâncias poliméricas extracelulares, constituindo-se, então, uma rede gelatinosa que imobiliza e protege as células microbianas. O biofilme é uma estrutura adsortiva e porosa, formada por mais de 95% de água na qual estão adsorvidos e envolvidos solutos e partículas inorgânicas (CHARACKLIS e MARSHALL, 1990).

Um biofilme forma-se naturalmente em qualquer superfície sólida em contato com água não esterilizada. Agregados microbianos presentes em separação de fases ar-

líquido ou líquido-líquido, ou agregados flutuantes como flocos ou grânulos, enquadram-se igualmente na definição de biofilmes. Apesar da ubiquidade dos biofilmes serem geralmente associada aos finos filmes microbianos que prontamente se formam na maior parte das superfícies sólidas, com espessuras da ordem dos milímetros ou mesmo micrometros, a espessura de alguns biofilmes pode atingir vários centímetros, como no caso dos tapetes de algas (XAVIER *et al*, 2003).

A formação e acumulação de biofilmes é resultado de vários processos de natureza física e biológica. As etapas de formação e evolução do biofilme estão apresentadas na Figura 4 estão descritas abaixo:

- 1) Formação de um filme de material orgânico e inorgânico que modifica a distribuição de cargas na superfície sólida, facilitando a aderência dos micro-organismos presentes no líquido (micro-organismos planctônicos);
- 2) Adesão e multiplicação de micro-organismos aeróbios (sésseis);
- 3) Produção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) por alguns micro-organismos;
- 4) Crescimento de micro-organismos anaeróbios internamente ao biofilme;
- 5) Aumento da espessura do biofilme, o que pode favorecer o desprendimento das camadas mais externas.

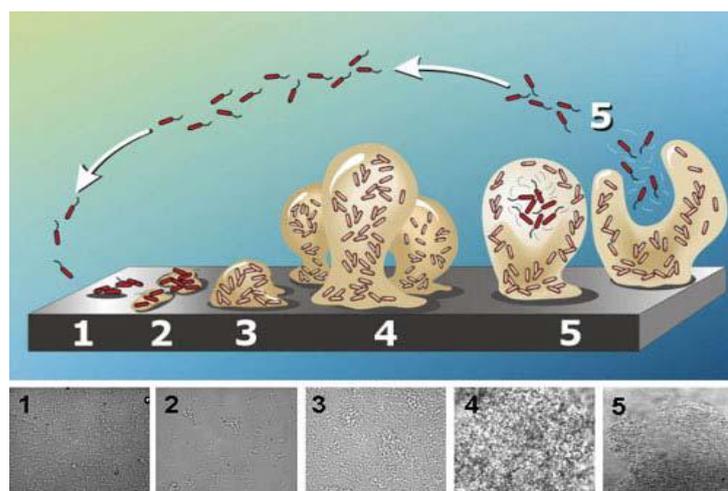


Figura 4. Etapas envolvidas na formação e crescimento de biofilmes (Fonte: BLICQ, 2008).

Um mesmo biofilme pode fornecer uma variedade de microambientes para o crescimento microbiano, um biofilme espesso pode conter ambientes aeróbios e anaeróbios devido a limitações da difusão do oxigênio dentro do mesmo (CHARACKLIS e MARSHALL, 1990).

São poucas as indústrias que estão livres da biocorrosão e de problemas provenientes de depósitos de “biofouling” (que pode ser compreendido como o acúmulo de biofilmes). A indústria de petróleo, em suas atividades de extração, processamento, distribuição e armazenamento, apresentam freqüentes e graves problemas por ação corrosiva de micro-organismos associados a depósitos biológicos. A biocorrosão também é muito freqüente em tubulações de distribuição de águas, sistemas de refrigeração, tubulações para condução de gás e gasômetros, tubulações enterradas, entre outras (GENTIL 2007).

3.8. Detecção e monitoramento da CMI

Além das estratégias de prevenção e controle da CMI é necessário fazer o monitoramento da corrosão e da formação de biofilmes de modo a validar a eficácia do tratamento, garantindo desta forma a segurança das atividades operacionais envolvidas (VIDELA, 2003).

O monitoramento da corrosão em dutos pode ser feita através da utilização de *pigs* inteligentes ou instrumentados, permitindo estimar a área corroída e sua localização, assim como a aquisição de dados para a classificação do processo corrosivo (TORRES, 2001). No entanto, estes instrumentos nem sempre são capazes de detectar a corrosão microbiológica, uma vez que esta se dá geralmente, em regiões localizadas denominadas de pites.

Para permitir que medidas de prevenção sejam implementadas de forma adequada é preciso utilizar-se de metodologias que permitam maior entendimento dos efeitos resultantes das atividades microbianas e o papel do biofilme no processo corrosivo (RODRIGUES, 2010). A técnica da utilização de cupons confeccionados com o mesmo material que é aplicado aos dutos, inseridos em sistemas de escala de laboratório e/ou

industrial também vem auxiliando bastante o monitoramento da CMI através da análise dos biofilmes formados.

Os métodos mais utilizados na detecção e monitoramento da biocorrosão são: métodos microbiológicos, análises físico-químicas e os métodos eletroquímicos. A seguir serão descritos sucintamente cada um destes métodos.

3.8.1. Métodos microbiológicos

Uma vez que é necessário identificar e enumerar os grupos microbianos causadores da biocorrosão, realizam-se normalmente as contagens dos principais micro-organismos envolvidos através da utilização de técnicas tradicionais de crescimento em meios específicos, da contagem direta por microscopia, ou ainda utilizando-se técnicas moleculares.

3.8.2. Análises físico-químicas

As determinações de teores de oxigênio, sulfeto, sulfato, pH e umidade são de extrema importância no monitoramento da águas e solos onde se encontram as estruturas metálicas. Sabe-se que essas variáveis influenciam diretamente o processo de corrosão e o metabolismo dos micro-organismos envolvidos.

3.8.3. Métodos eletroquímicos

São métodos utilizados na detecção de alterações sensíveis na cinética do processo corrosivo, permitindo desta forma efetuar o monitoramento *in situ* da sua evolução através de sistemas informatizados de aquisição de dados. Como exemplos destes métodos podem ser citados o potencial de corrosão e as curvas de polarização (GENTIL,2007).

3.9. Solos

Pode-se definir solo como um meio natural para o desenvolvimento de plantas, que recobre a Terra como uma camada quase contínua de pólo a pólo. Em qualquer lugar, suas características são decorrentes da ação combinada de cinco fatores: rocha matriz, clima, relevo, seres vivos e tempo, acrescido do uso pelo homem (FERREIRA, 1999).

O solo é um sistema complexo que é constituído por três fases: gasosa, líquida, e sólida (inorgânica e orgânica). As fases gasosas e líquidas somam cerca de cinquenta por cento do volume total do solo, sendo o restante ocupado pela sólida (CACCIATORE, McNEIL, 1995).

A fase gasosa do solo é composta de ar livre e dissolvida na água do solo, além de outros gases que por ventura podem ser emanados pela decomposição microbiana da matéria orgânica do solo. A fase líquida é composta pela água do solo, e esta por sua vez, possui elementos químicos e substâncias dissolvidas. A fase sólida inorgânica é composta por óxidos de ferro, alumínio, silício entre outros, em arranjos químicos diversos, que correspondem a areia, o silte e a argila. Podem ainda participar da fração inorgânica sólida os sais, bases e ácidos. A fração orgânica do solo constitui os detritos de animais e de vegetais, o húmus (FERREIRA, 1999).

A contaminação dos solos pelo petróleo e seus derivados pode ser distribuída por todas as três fases do solo devido à volatilidade, solubilidade e carga iônica do contaminante. Tal contaminação advém desde os processos extrativos, passando pelos vazamentos nas operações de transporte e armazenamento, chegando até a disposição inadequada dos resíduos da indústria petrolífera (CACCIATORE e McNEIL, 1995; de FRANÇA, 2000).

Quando os vazamentos se dão diretamente no solo, como no caso de rompimento de dutos enterrados e tanques de armazenamento, uma parte de tais compostos pode ser sorvida pelo solo e outra parte pode percolar ou difundir até alcançar os lençóis freáticos, conforme seja a granulometria, a compactação, a capacidade de retenção e a composição química da matriz do solo. Se a pluma de contaminação consegue alcançar

os lençóis freáticos, surgem outros problemas ainda mais sérios, devido à escassez de água potável (OLIVEIRA, 2001).

A ação dos agentes físicos, químicos e biológicos forma faixas horizontais nos solos denominadas horizontes, os quais conferem características próprias aos diversos tipos de solo. Um fator característico é a textura de um horizonte, que está relacionada com as quantidades relativas argiloso, silte e areia determinada pelas percentagens dessas partículas pertencentes a vários grupos de tamanho (Figura 5). A soma dos horizontes denomina o perfil de um solo (SERRA, 2006; FERREIRA, 2005).

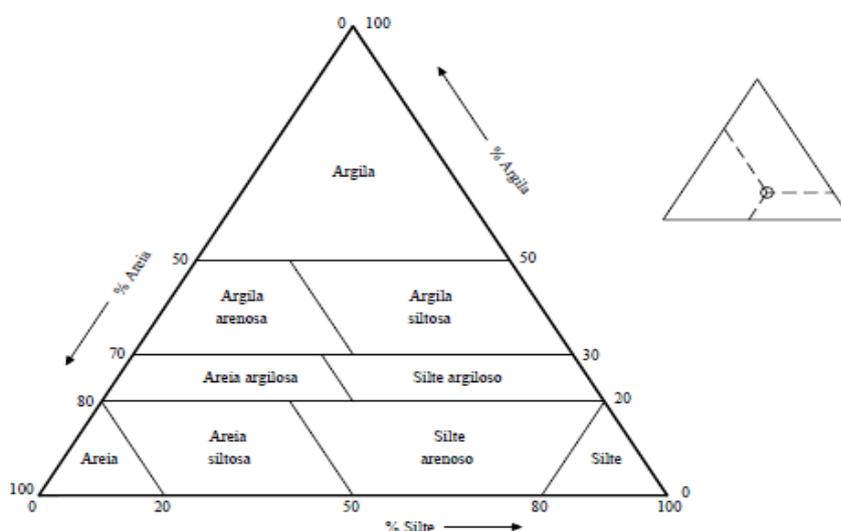


Figura 5. Diagrama de textura adotado pela sociedade brasileira de ciência do solo (RESENDE et al., 2002).

Os solos estudados nesse trabalho são o argiloso e o solo arenoso que é um solo arenoso. As principais características desses solos serão mostradas a seguir:

3.9.1. Solo argiloso

Estes solos compreendem depois dos latossolos a ordem mais extensa de solo brasileiros, sendo por isso, de grande importância em nosso país. São solos minerais, não-hidromórficos, com horizonte A ou E (horizonte de perda argiloso, ferro ou matéria orgânica, de coloração clara) seguido de horizonte B textural, com nítida diferença entre os horizontes. Apresentam horizonte B de cor avermelhada até amarelada e teores de óxidos de ferro inferiores a 15%. Podem ser eutróficos (com nutrientes em níveis

ótimos), distróficos (solos bastante ácidos de media ou baixa fertilidade) ou álicos. Têm profundidade variadas e ampla variabilidade de classes texturais (EMBRAPA, 2007).

Nesses solos, constata-se grande diversidade nas propriedades de interesse para a fertilidade e uso agrícola (teor variável de nutrientes, textura, profundidade, presença ou ausência de cascalhos, pedras o concreções, ocorrência em diferentes posições na paisagem, entre outras). Dessa forma, torna-se difícil generalizar suas qualidades.

Problemas sérios de erosão são verificados naqueles solos em que há grande diferença de textura entre os horizontes A e B, sendo tanto maior o problema quanto maior for a declividade do terreno.

Os solos distróficos e álicos, além da limitação da fertilidade, podem ainda apresentar problemas com a eficiência da adubação e da calagem se estiverem localizados em relevos de ondulosos a forte-ondulosos. Nessas situações, é imprescindível a utilização intensiva de práticas de conservação do solo para evitar perdas de fertilizantes e de corretivos por erosão. Os problemas podem ser mais graves ainda se o solo for cascalhento (EMBRAPA,2007).

Nos solos eutróficos, não existe limitação quanto à fertilidade. Entretanto, a retirada constante de nutrientes pelas plantas cultivadas, e a erosão nas áreas mais declivosas, podem reduzir a disponibilidade de nutrientes (EMBRAPA, 2007).

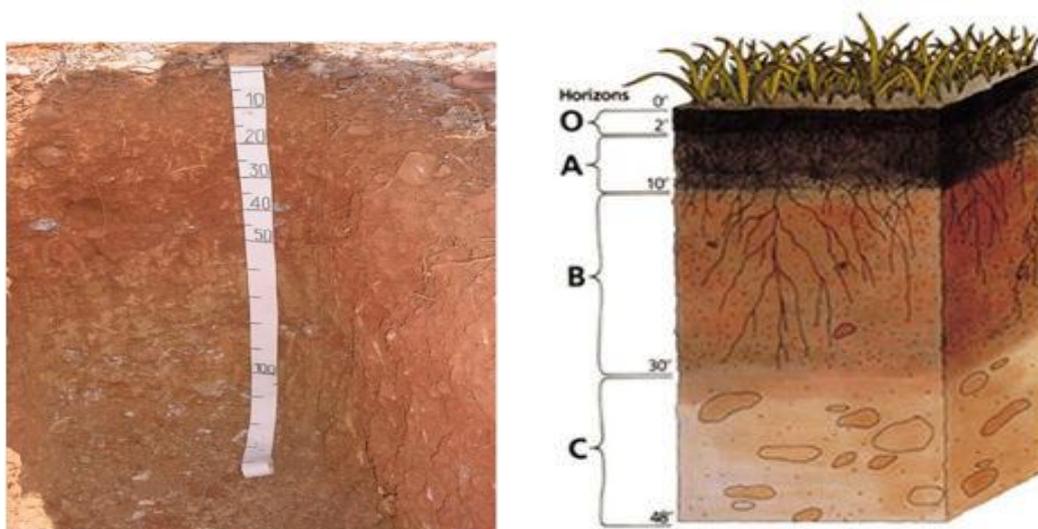


Figura 6. Detalhe das camadas ou horizontes no perfil do solo (adaptado de Prado, 2001).

3.9.2. Solo Arenoso

Solos de textura arenosa possuem menos que 15% argiloso, e constituem solos “leves”. A areia é uma partícula de maiores dimensões (0,05 a 2 mm) que as argilas e formam solos com macroporos, conseqüentemente tem uma boa drenagem, menor chance de compactação e mais favorável para o crescimento de raízes (Figura 6). Esse tipo de solo tem baixa capacidade de reter nutriente, permitindo a lixiviação de nutrientes e, portanto são solos menos férteis (GODOY, 2003)

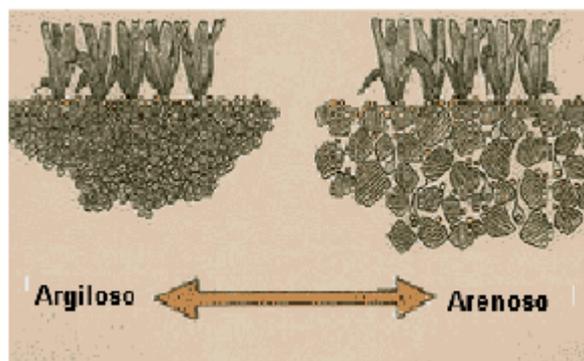


Figura 7. Comparação entre solo argiloso e solo arenoso (adaptado de Turgeon, 2003).

3.10. Corrosividade dos solos

É de extrema importância o estudo do solo como meio corrosivo tendo em vista a diversidade e extensão de estruturas metálicas enterradas, como gasodutos, oleodutos, minerodutos, tubulações para água além da grande quantidade de tanques de armazenamento de combustíveis (PANOSSIAN, 1993). A corrosividade do solo pode ser definida como sua capacidade de desenvolver o processo de corrosão em estruturas metálicas (FERREIRA,2005). As propriedades do solo exercem uma influência particular na corrosão eletroquímica modificando as condições dos processos anódicos e catódicos.

Para se determinar a ação corrosiva de um solo é necessária a verificação inicial de sua natureza, isto é, de suas características físico-químicas, das condições

microbiológicas e posteriormente, das condições que podem determinar ações corrosivas mais ou menos intensas sobre as estruturas enterradas. PONCIANO (2004) comenta que o solo, se comparado a outros meios como atmosfera e a água do mar, apresenta uma maior dificuldade de classificação no que se refere a sua corrosividade potencial, em função de sua maior complexidade. A água do mar apresenta características bem definidas pelos especialistas em corrosão, sendo o mesmo observado em relação à atmosfera, que dispõe de classificações padronizadas dos diferentes tipos de atmosfera, a saber: urbana, marinha, industrial e rural.

A velocidade de corrosão no solo não é muito influenciada por pequenas variações na composição e estrutura do material metálico, sendo mais importante a natureza do solo. Essa natureza pode ser influenciada por diversas variáveis, tais como: tomada de amostra- variabilidade, características físico-químicas (presença de água, sais solúveis, gases, acidez, pH, resistividade elétrica e potencial redox), condições microbiológicas (influência direta, modificação na resistência de revestimentos, origem de meios corrosivos) e condições operacionais (GENTIL, 2007).

A agressividade do solo aos metais pode ser dividida em agressividade específica e agressividade relativa. A primeira depende das propriedades físicas (textura, estrutura, interação solo-água), químicas (acidez total e concentração de espécies iônicas) e biológicas (bactérias aeróbias ou anaeróbias) do solo enquanto que a segunda se relaciona a formação das pilhas de longo alcance, as pilhas de concentração, as pilhas galvânicas e as correntes de fuga.

As chamadas pilhas de longo alcance são comuns em estruturas de grande extensão (tubulações) atravessando solos de alta e baixa resistividade. As pilhas de concentração decorrem do contato da estrutura metálica com solos de diferentes teores de oxigênio ou de diferentes teores de sais (SERRA, 2006).

De acordo com López *et al* (2006), os principais fatores que influenciam a corrosão pelo solo são:

- ✓ Condutividade (ou, inversamente, resistividade);
- ✓ Atividade microbiana;
- ✓ Presença de íons (cloreto, sulfeto, sulfato).

Gentil (2007) cita como condições operacionais que também podem influenciar na ação corrosiva dos solos as condições climáticas (chuva, temperatura, umidade relativa do ar e ventos), o emprego de fertilizantes, despejos industriais, profundidade, aeração diferencial, contato bimetálico e correntes de fuga.

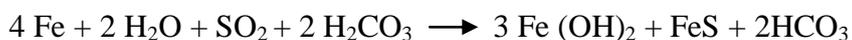
3.11. Características Microbiológicas

Os micro-organismos desempenham funções específicas e de grande importância na manutenção de ecossistemas. As bactérias são as mais abundantes no solo e variam no tamanho, forma, metabolismo e fonte nutricional (DRAGUN, 1998). A diversidade de população bacteriana na superfície do solo (m²) é de 10⁸ - 10⁹ células por grama de solo (TRINDADE, 2002).

Os micro-organismos, devido a um ou mais dos seguintes fatores, podem concorrer para que a ação corrosiva do solo seja mais acentuada:

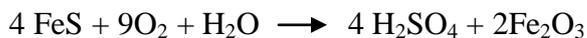
- ✓ Influência direta na velocidade das reações anódicas e catódicas;
- ✓ Modificações na resistência de películas, existentes nas superfícies metálicas, pelos produtos do metabolismo microbiano;
- ✓ Originando meios corrosivos.

Como exemplo de bactérias que podem influenciar na velocidade das reações anódicas e catódicas devem-se citar as BRS chamando atenção para as *Desulfovibrio desulfuricans*, bactérias anaeróbias, que se desenvolvem, portanto, na ausência de ar e retiram a energia necessária aos seus processos metabólicos da reação de oxirredução:



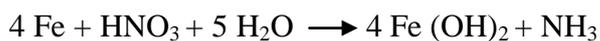
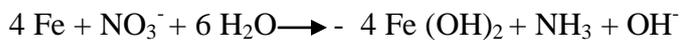
A corrosão, nesses casos, é caracterizada pela presença de tubérculos, embaixo dos quais se notam profundos pites e presença de sulfeto de ferro, de cor preta, no produto da corrosão. A presença isolada de sulfetos de ferro, FeS, não é evidencia conclusiva, pois só o sulfeto pode provir de outra fonte, como, por exemplo, gás sulfídrico de terrenos pantanosos, daí a necessidade de análise bacteriológica para confirmação da ação corrosiva de micro-organismos (GENTIL,2007).

Como bactérias que originam meios corrosivos, devem ser citadas as oxidantes de enxofre ou seus compostos como sulfeto, sulfito e tiosulfato. Essas bactérias, como a *Acidithiobacillus thiooxidans*, são aeróbias e autotróficas, sintetizando seu material celular de compostos inorgânicos de carbono e nitrogênio. A energia para essa síntese é proveniente da oxidação do enxofre ou seus compostos, como exemplificam as reações de oxidação de enxofre e de sulfeto de ferro, FeS, comumente encontrados em regiões carboníferas.



A formação de ácido sulfúrico, H₂SO₄, ou de sulfato, SO₄, vai evidentemente tornar o solo mais corrosivo, pois vai ocorrer diminuição de pH (podendo atingir pH =2) e da resistividade elétrica do solo.

Os exemplos de bactérias mais influentes na ação corrosiva do solo são os apresentados. Entretanto, embora não sendo freqüente, pode-se citar o caso das bactérias redutoras de nitrato, como *Micrococcus denitrificans*, que são anaeróbias e possibilitam a reação de corrosão do ferro:



TILLER (1982) verificou que os casos mais significativos de corrosão microbiológica estão associados com materiais enterrados, principalmente quando há predominância de condições de anaerobiose, sendo essas usualmente associadas com solos argilosos. Cita como mais freqüentes as bactérias redutoras de sulfato, afirmando que o problema de corrosão é facilmente reconhecido pelo odor de gás sulfídrico, H₂S, quando o solo é escavado, ou pela presença de manchas escuras no solo próximo a tubulação enterrada.

Em razão dessas considerações, pode-se verificar que os micro-organismos podem ter grande importância nos processos corrosivos de tubulações enterradas, mas a dificuldade que ocorre é na caracterização dos mesmos, devido à dificuldade de isolá-los e colocá-los em meio de cultura apropriado sem que ocorra alteração de suas condições reais. Logo, a tomada da amostra deve ser cuidadosa e o meio de cultura, para

análise bacteriológica, deve ser adequado ao desenvolvimento dos micro-organismos em estudo (GENTIL, 2007).

3.12. Características físico-químicas do solo

De acordo com GENTIL (2007), as características físico-químicas do solo que podem influir mais diretamente na sua ação corrosiva são:

- ✓ Umidade;
- ✓ Presença de sais solúveis;
- ✓ Presença de gases;
- ✓ Acidez;
- ✓ pH;
- ✓ Sulfatos e Sulfetos;
- ✓ Resistividade elétrica;
- ✓ Potencial redox.

A Figura 8 mostra a interação entre esses parâmetros e a sua influencia na reação catódica de um processo corrosivo. A seguir serão descritas algumas dessas características.

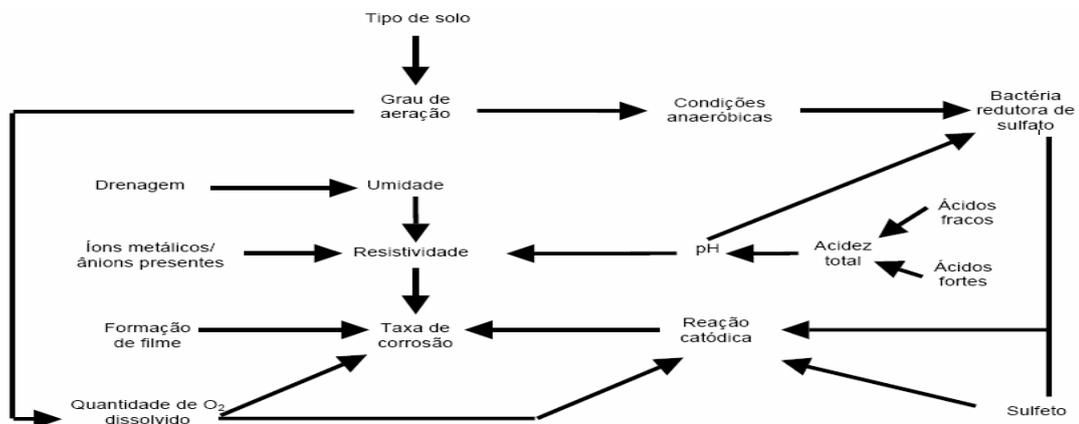


Figura 8. Parâmetros que determinam a corrosividade de um solo (ROBINSON, 1993).

3.12.1. Teor de umidade

A quantidade de água nos poros do solo faz com que o ar presente entre esses mesmos poros decresça, essa água desce pelo solo dissolvendo e carregando materiais dissolvidos (FERREIRA, 2005).

Solos argilosos têm maior capacidade de retenção de água e uma baixa permeabilidade, esses fatores favorecem a corrosão do metal. A porcentagem de umidade presente no solo é diretamente proporcional a superfície disponível, conseqüentemente ao tamanho da partícula (RODRIGUES, 2010).

A umidade das camadas do solo apresenta uma variabilidade importante nos domínios espacial e temporal, que pode levar a incertezas críticas para o manejo agrícola da água (HU et al., 2008). De acordo com TIMM et al. (2006), a umidade influencia importantes processos no solo e na planta tais como: movimento de água, compactação do solo, aeração do solo e desenvolvimento radicular.

3.12.2. Capacidade de retenção de água (CRA)

A composição do solo pode influir na capacidade de retenção da água. Em areia ou em um solo arenoso, ocorre infiltração mais rápida e pouca retenção da água devido ao espaço poroso (predomínio de macroporos), que permite a drenagem livre da água do solo. Esses solos são, por natureza, mais secos porque retém pouca água. Eles são soltos, com menor tendência para a compactação do que os argilosos e fáceis de preparar. Já nos solos argilosos, existe maior retenção de água no solo devido à presença dos microporos que retém a água contra as forças da gravidade, porém esses solos podem ser facilmente compactados. Isto reduz o espaço poroso, o que limita o movimento do ar e da água através do solo, causando um grande escoamento superficial das águas da chuva (LOPES, 1989).

A água armazenada no solo é importante, pois é a principal fonte deste componente às plantas, bem como é o meio no qual estão solúveis os nutrientes essenciais à planta (solução do solo). Na ausência da água, não é possível a vida vegetal ou animal (KLAR, 1984)

3.12.3. Resistividade elétrica

A resistividade é um indicador comumente usado para avaliar a corrosividade do solo ao metal enterrado. A baixa resistividade do solo indica que há abundância de corrente fluindo entre as áreas anódicas e catódicas na superfície do metal, enquanto que solos de alta resistividade as suprimem (BRADFORD,2002).

A resistividade do solo muda ao longo do ano dependendo das condições pluviométricas. Sendo assim, a proteção contra a corrosão baseada nas piores condições é vista como um fator de segurança.

Geofísicos têm recentemente feito o mapeamento da resistividade do solo, de modo a obter uma boa descrição da estrutura tridimensional do solo, sem causar-lhe nenhum dano. Os modos usuais de investigação, como a perfuração e a escavação, provocam modificações no solo, destruindo assim, o objeto de estudo (TABBAGH.2000).

3.12.4. Potencial redox

O potencial redox corresponde ao potencial de oxidação e redução de um ambiente. Através deste parâmetro é possível estimar se o solo é aeróbio ou anaeróbio e se compostos químicos foram reduzidos ou ainda estão presentes nas suas formas oxidadas. Robinson (1993) descreve que a medida do potencial redox pode ser usada na identificação das condições do solo em relação à presença de bactérias anaeróbias tais como as bactérias redutoras de sulfato (LOUREIRO et al 2007).

3.12.5. Potencial de hidrogênio (pH)

Solos com pH inferior a 5 podem contribuir para uma corrosão severa e uma rápida deterioração dos metais expostos. Solos com pH entre 6,5 e 7,5 em condição de ausência de oxigênio e que possuem bactérias redutoras de sulfato promovem corrosão microbiológica nos metais. Solos com pH acima de 8 (alcalinos ou calcários) contêm altas concentrações de sais dissolvidos resultando numa baixa resistividade. Solos alcalinos têm elevados teores de sódio e potássio, enquanto que os solos calcários possuem cálcio e magnésio (LOUREIRO *et al.*, 2007).

3.12.6. Sais solúveis

Para estudo da corrosão, principalmente em solo, é fundamental a determinação dos sais solúveis em água. A capacidade do solo em conduzir elétrons pode ser alterada dependendo da quantidade e da natureza destes compostos, bem como do teor de água. TRABANELLI *et al.*, (1972) consideraram teores de cloreto, sulfato e sulfeto como sendo os mais importantes.

- Cloreto

Os íons cloreto elevam a condutividade do solo e formam produtos de corrosão solúveis que tornam o metal vulnerável a processos corrosivos. Estes íons produzem o ácido clorídrico, que abaixa o pH do solo. Aumentando-se a concentração de íons cloreto, diminui-se a resistividade do solo, facilitando as correntes de corrosão (LOUREIRO *et al.*, 2007).

- Sulfato

Íons sulfato no solo são frequentemente associados à presença de matéria orgânica. Estes íons no solo são agressivos devido à formação de FeSO_4 que é solúvel. Além disso, o sulfato serve como nutriente para as bactérias redutoras de sulfato (BRS) que, se presentes, aumentam significativamente a taxa de corrosão do aço (LOUREIRO *et al.*, 2007).

- Sulfeto

A presença de sulfeto pode ser avaliada em solos pelo fato deste íon ser resultante do processo metabólico de redução de íons sulfato ou sulfito por bactérias redutoras de sulfato presentes no meio. Uma concentração maior que 0,5 ppm de sulfeto indica que o solo é muito corrosivo, e mesmo sua presença em traços é indesejável (LOUREIRO *et al*, 2007).

3.13. Avaliação da corrosividade do solo

Para se determinar a ação corrosiva de um solo é necessário a verificação inicial de sua natureza, isto é, de suas características físico-químicas, das condições microbiológicas e posteriormente, das condições que podem determinar ações corrosivas mais ou menos intensas sobre as estruturas enterradas (FERREIRA, 2005). Existem vários critérios para a avaliação da corrosividade do solo em função dos parâmetros físico-química do solo e são propostos a partir do conhecimento de suas propriedades. O Critério de Starkey e Wight que relaciona o potencial redox com a corrosividade do solo tem a seguinte classificação apresentada na Tabela 1:

Tabela 1. Classificação da corrosividade do solo em função do potencial redox (Starkey e Wight, 1971).

Potencial Redox (mV)	Corrosão
> 400	Ausência
200-400	Ligeira
100-200	Moderada
< 100	Severa

Entretanto, esse critério tem suas restrições, pois na prática o potencial não é constante e varia de acordo com sua natureza, temperatura, presença de águas ácidas ou aeradas. O Critério de Booth fez estudos que analisam a resistividade, potencial redox e umidade do solo. Este mesmo autor apresentou em estudos com Tiller os parâmetros da Tabela 2.

Tabela 2. Classificação da corrosividade do solo em função da resistividade, potencial redox e teor de umidade (Booth & Tiller, 1968).

Parâmetros	Agressivo	Não - agressivo
Resistividade (Ohm.cm)	< 2000	> 2000
Potencial Redox (Eh) em pH 7	< 0,40 (ou 0,43 para solo argiloso)	> 0,40 (ou > 0,43 para solo argiloso)
Teor de água	> 20%	< 20%

Neveux (1968) estabeleceu como critério para avaliação da corrosividade a relação entre resistividade elétrica e grau de agressividade do solo (Tabela 3).

Tabela 3. Classificação da corrosividade do solo em função da resistividade segundo Neveux (1968).

Resistividade (Ohm.cm)	Grau de agressividade
< 1000	Extremamente agressivo
1000 - 2000	Fortemente agressivo
2000 - 3500	Moderadamente agressivo
3500 - 5000	Pouco agressivo
5000 - 10000	Ligeiramente agressivo
> 10000	Não- agressivo

Outros autores também utilizaram outros parâmetros para fazer a avaliação do solo dentre eles estão: Critério de Girard que estuda a umidade de saturação, resistividade do extrato aquoso e acidez total; Critério de Gotlieb e Vieira que utiliza os parâmetros: resistividade, sais solúveis, acidez total e coeficiente de despolarização.

3.14. Índice de Steinrath

Um dos critérios mais completos de avaliação da corrosividade dos solos através de suas propriedades foi apresentado por Steinrath, o qual se baseia na determinação dos parâmetros: resistividade, potencial redox, pH, teor de umidade, íons cloreto, íons sulfato e íons sulfeto. O critério adotado por Steinrath atribui índices parciais de corrosividade para cada um dos parâmetros considerados, conforme demonstrado na Tabela 4. A soma algébrica dos índices parciais (Tabela 5) fornece uma avaliação da agressividade absoluta do solo em análise.

Tabela 4. Parâmetros relacionados por Steinrath para avaliação da corrosividade do solo.

Parâmetros do solo	Índice Parcial	Parâmetros do solo	Índice Parcial
Resistividade (Ohm. cm)		Cloreto (mg/Kg)	
>12000	0	< 100	0
12000 a 5000	-2	100 a 1000	-1
5000 a 2000	-1	> 1000	-4
< 2000	-4		
Potencial redox (mV/NHE)		Sulfeto (mg/Kg)	
>400	+ 2	Ausente	0
400 a 200	0	< 0,5	-2
200 a 0	-2	> 0,5	-4
0	-4		
pH		Sulfato (mg/kg)	
> 5	0	< 200	0
< 5	-1	200 a 300	-1
		> 300	-2
Umidade (%)			
< 20	0		
>20	-1		

Tabela 5. Índices totais da agressividade do solo Segundo Steinrath (TRABANELLI et al., 1972).

Classificação do Solo	Índice Total de Agressividade
Sem agressividade	0
Pouca agressividade	-1 a -8
Média agressividade	-8 a -10
Alta agressividade	< -10

A partir da observação de bons índices de correlação entre medidas de potencial redox em campo e a concentração de BRS, em solos preponderantemente alagados, foi criado o critério de Steinrath modificado (BAPTISTA & MAGALHAES, 2002), utilizando a concentração de BRS (NMP/g solo) em lugar de determinação do potencial redox (mV/enh). A tabela 6 apresenta o parâmetro relativo a BRS e seu respectivo índice.

Tabela 6. Parâmetro utilizado no índice de Steinrath modificado, onde o potencial redox é substituído pela concentração de BRS (BAPTISTA & MAGALHAES, 2002).

BRS	Índice Parcial
< 2×10^3	+2
2×10^3 a 10^4	0
10^4 a 6×10^4	-2
> 6×10^4	-4

Vários autores (SOUZA e OLIVIER, 2002, BATISTA e OLIVIER, 1994, BUENO, 2003, BUENO, 2004, FERREIRA, 2005 e BUENO, 2004) já vem utilizando esta metodologia de avaliação de corrosividade de solos. Com esta avaliação mais ampla é possível considerar diferentes parâmetros físico-químicos e bacteriológicos que interferem no processo corrosivo.

3.15. Ecologia Microbiana Molecular

A diversidade de micro-organismos como indicador da qualidade do solo é bastante discutido, especialmente na última década, com o advento de técnicas de biologia molecular que têm favorecido a avaliação dos micro-organismos em amostras ambientais (COUTINHO *et al.*, 1999; ROSADO, 2000; TIEDJE *et al.*, 2001). O principal argumento a favor dessa característica ambiental é o fato da diversidade microbiana manter-se naturalmente inalterada ao longo do ano (SMIT *et al.*, 2001; JOHNSON *et al.*, 2003).

Métodos moleculares de análise da estrutura e diversidade microbiana, utilizando DNA genômico extraído diretamente de amostras ambientais, surgidos na última década, têm permitido um avanço considerável no estudo da ecologia de micro-organismos (O'DONNELL & GORES, 1999; RANJARD *et al.*, 2000).

3.15.1. Extração do DNA

Há vários protocolos para a extração direta e indireta de DNA do solo. A extração direta envolve lise celular direta na matriz seguida da extração do DNA, enquanto a extração feita indiretamente envolve a separação das células para posterior lise e extração do DNA (LIANG, LIU 2006, SCHNEEGURT *et al* 2003).

Atualmente, existem diversos kits comerciais para extração de DNA de amostras ambientais, como por exemplo, o FAST DNA Spink Kit for soil.

3.15.2. PCR (Reação em Cadeia de Polimerase)

A reação em cadeia da polimerase foi inicialmente descrita por SAIKI e colaboradores (SAIKI *et al*, 1988). Esta técnica permite amplificar 'in vitro' segmentos específicos de DNA, gerando várias cópias desses fragmentos.

A PCR possibilita síntese de fragmentos de DNA, usando a enzima DNA-polimerase, a mesma que participa da replicação do material genético nas células. Esta

enzima sintetiza uma sequência complementar de DNA, desde que um pequeno fragmento (o iniciador, ou primer, em inglês) já esteja ligado a uma das cadeias do DNA no ponto escolhido para o início da síntese. Os iniciadores definem a sequência a ser replicada e o resultado obtido é a amplificação de uma determinada sequência de DNA com bilhões de cópias (MULLIS,1990).

O desenvolvimento da Reação da Polimerase em Cadeia (PCR) possibilitou um grande avanço no desenvolvimento de diferentes técnicas moleculares. Podemos citar a aplicação da PCR na classificação e identificação de micro-organismos utilização de iniciadores correspondentes a regiões repetitivas (rep) no genoma (VERSALOVIC, KOEUTH & LUPSKI, 1991; de BRUIJN, 1992), e na amplificação de regiões específicas no genoma bacteriano para posterior utilização desses produtos em técnicas que originam perfis de comunidades microbianas (ROSADO e DUARTE, 2002).

3.15.3. DGGE (Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante)

Esta técnica identifica diferenças estabelecidas no comportamento desnaturante da dupla fita de DNA que, submetida a um gradiente crescente de concentração de agentes desnaturantes (uréia e formamida), se separam em fragmentos discretos, chamados domínios de desnaturação. São ampliações de DNA com mesmo tamanho, mas com composição diferente, em pelo menos um par de bases, que migraram para posições diferentes no gel, gerando assim um perfil genotípico da comunidade (RODRIGUES, 2009). Entretanto, a maior limitação da técnica é que seqüências muito grandes não podem ser eficientemente separadas. O PCR não deve ultrapassar 500 pb, o que acaba limitando as informações para inferências filogenéticas (MUYZER, 1998).

A mobilidade eletroforética do DNA é sensível a estrutura secundária da molécula que pode ser helicoidal, parcialmente desnaturada e de fita simples. Portanto a desnaturação parcial promove uma movimentação mais lenta no gel comparado a molécula em fita dupla ou simples. As moléculas que possuem seqüência nucleotídicas diferentes irão parar de migrar em posições distintas no gel, gerando perfis diferenciados. A Figura 9 apresenta a visualização dos produtos de PCR em gel de agarose e separados através da eletroforese em gel com gradiente de desnaturantes (DGGE) (ROSADO, 1997).

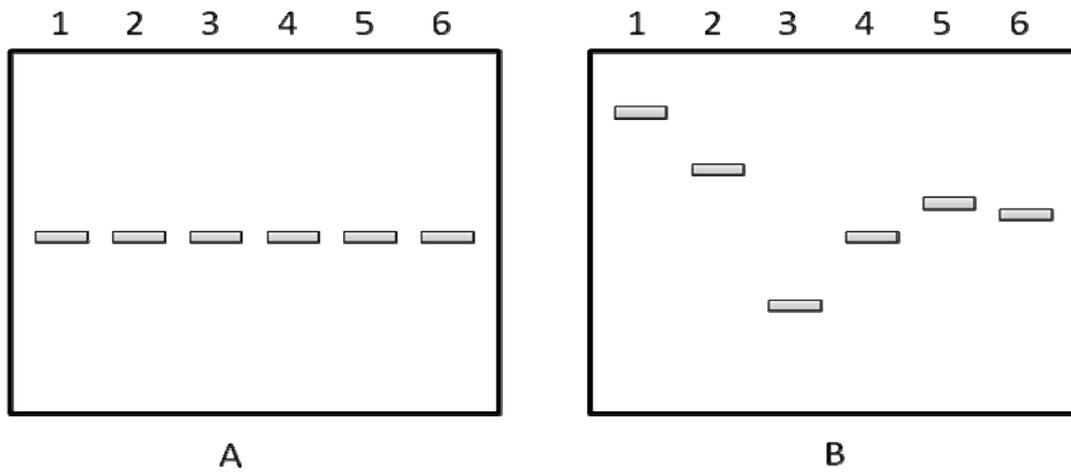


Figura 9. Produtos de PCR visto após eletroforese em gel (A) e em gel com gradiente de desnaturante (B).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Corpos-de-prova

Nos experimentos foram utilizados cupons metálicos de aço carbono API 5LX60 de dimensões 25x25x3mm (Figura 10). Os cupons foram confeccionados no Laboratório de Materiais e Compósitos do Departamento de Engenharia Mecânica da UFPE. A composição química dos aços utilizados está descrita na Tabela 7.



Figura 10. Corpo- de- prova metálico utilizado no processo.

Tabela 7. Composição química dos cupons aço carbono API 5LX60.

Composição Química	Referência (%)	Experimental (%)
C	0,15	0,21
Mn	1,6	0,46
P	0,03	0,022
S	0,03	0,005
Fe	98,19	98,95
Si	-----	0,23
Cr	-----	0,06
Ni	-----	0,01
Mo	-----	0,02
V	-----	0,00
Ti	-----	0,002
Nb	-----	0,001
Al	-----	0,024

Antes de serem utilizados, os cupons metálicos foram jateados com microesferas de vidro para remoção de possíveis produtos de corrosão e obtenção de um perfil de rugosidade adequado as condições reais de campo. Em seguida, foram lavados com álcool isopropílico e acetona, secados em estufa a $70 \pm 1^\circ\text{C}$ por 30 minutos e levados ao dessecador por 20 minutos. Em seguida foram pesados ao décimo de miligrama, e só então utilizados nos experimentos (DANTAS, 1988).

4.2. Solos do processo

Foram utilizadas duas amostras de solo argiloso e arenoso provenientes da região de SUAPE, onde os dutos da Refinaria Abreu e Lima serão colocados para fazer o transporte de fluidos.

4.2.1. Amostragens dos solos

Os dois tipos de solos foram coletados com pá, picareta e escavador manual. As amostras foram retiradas em uma profundidade de 1,0m e acondicionadas em sacos plásticos para serem transportadas ao laboratório de Microbiologia Industrial e Ambiental da UFPE.

As Figuras 11 (a) e (b) e 12 (a) e (b) mostram as áreas onde foram retiradas as amostras de solo argiloso e arenoso na superfície e na profundidade de 1,0m.



(a)



(b)

Figura 11(a) e (b). Região de Suape com solo argiloso.



(a)



(b)

Figura 12(a) e (b). Região de Suape com solo arenoso.

Os solos coletados foram analisados quanto aos parâmetros físico-químicos, geotécnicos e microbiológicos.

4.3. Análises físico-químicas dos solos

As determinações de carbono orgânico, fósforo total, condutividade elétrica, cloretos, sulfatos, potencial redox e os teores dos metais são parâmetros muito importantes para avaliar a funcionalidade deste solo, pois eles influenciam diretamente no processo corrosivo e no metabolismo dos micro-organismos (GENTIL, 2007). As análises foram realizadas no LAMSA-UFPE e no Laboratório de Engenharia Ambiental e da Qualidade da UFPE.

A seguir será descrito o procedimento das análises:

4.3.1. As análises físico-químicas realizadas no LAMSA:

A determinação de Carbono Orgânico e Nitrogênio na amostras foram realizados segundo a metodologia da EMBRAPA SOLOS (1997), o fósforo foi obtido pelo método colorimétrico, o sulfato e os cloretos foram obtidos segundo a metodologia descrita no VOGEL (1981), os teores de metal: Magnésio, Sódio, Potássio foram analisados no espectrofotômetro AA-6300 SHIMADZU Atomic Absorption Spectrophotometer. Já os metais como Alumínio, Cálcio, Manganês, Chumbo, Ferro e zinco foram determinados a partir uma reação de ataque rápido descrita no VOGEL (1981) com misturas de ácidos e depois analisadas em aparelho de absorção atômica AA-6300 SHIMADZU Atomic Absorption Spectrophotometer.

4.3.2. Capacidade de Retenção de Água (CRA)

A determinação da CRA foi realizada segundo a Norma ASTM D 2017, cujo procedimento é descrito a seguir: a amostra de solo previamente seca em estufa a 100 °C/ 24 h foi peneirada (malha de 2mm) e distribuída em funil de "Buchner" de 5 cm de

diâmetro e 2,5 cm de profundidade, com fundo recoberto com um papel de filtro qualitativo whatman. Seguiu-se a compactação do solo contido no funil, através da queda, em superfície de madeira por 3 vezes consecutivas de uma altura de 1 cm. Nivelou-se a superfície da amostra do solo com uma espátula. Colocou-se o funil cheio em um bequer com capacidade de 400 ml, retendo-o em posição para cima, pelas bordas do funil. Adicionou-se água ao béquer a uma altura ligeiramente superior ao do papel de filtro e aguardou-se que o solo absorvesse água por capilaridade, evitando o encapsulamento de ar na coluna. Quando a parte superior da amostra de solo apresentou sinais de umidade, adicionou-se mais água até seu nível aproximar o topo do funil. Cobriu-se todo o sistema com pano úmido, deixando amostra do solo umedecida no mínimo por 12 horas. Colocou-se o funil coberto em um frasco de sucção conectado a um aspirador de água. Após 15 minutos, a amostra do solo foi transferida para em um recipiente previamente tarado e determinou-se o teor de umidade em porcentagem.

4.3.3. Resistividade

Esta análise foi realizada conforme recomendação técnica (GCOI/SCM/95) usando o método laboratorial de construção da curva de resistividade em função do teor de umidade. Primeiramente, secou-se totalmente o solo em estufa a 80°C por 24h. O valor da resistividade foi medido através de caixa padrão soil box (6,2 cm para o comprimento, 2,5 cm para altura e 2,5 cm para largura) com multímetro marca DIGIMED modelo DM-3P, adicionando-se água destilada a amostra na proporção de 5% (v/v) em relação a massa do solo seco e medindo-se novamente a resistividade. Efetuaram-se adições sucessivas de água destilada com incremento de 5% (v/v), medindo-se os valores de resistividade para cada volume de água.

Os dados obtidos foram plotados em função do teor de umidade para avaliação do comportamento do solo estão no anexo 1.

4.3.4. Umidade

A umidade natural do solo foi realizada a cada 72 horas esse monitoramento foi realizado durante os experimentos utilizando-se um analisador de umidade por infravermelho, da marca FALKER, Hidrofarm HFM 2010.

4.3.5. Potencial redox

Para a determinação do potencial redox do solo foi utilizado contra-eletrodo de platina e, eletrodo de Cu/CuSO₄, como referencia. O eletrodo de referencia foi introduzido verticalmente ate penetrar completamente no solo evitando qualquer contato com o ar. Realizou-se a leitura apos cerca de 3 minutos quando o valor, em décimo de mV (0,1 mV), se estabilizou por no mínimo 10 segundos. Entre as determinações o eletrodo era lavado com água destilada ate que, visualmente, os resíduos da amostra anterior fossem completamente removidos (LEHMANN & VINATEA, 2008).

4.3.6. Determinação do Sulfeto

A determinação de sulfeto total foi realizada no laboratório de Microbiologia do Petróleo da Escola de Química da UFRJ e seguiu uma adaptação do método colorimétrico usando N,N-dimetil-p-fenileno-diamina e cloreto férrico, conforme descrito por Jacobs, Braverman, Hocheiser (1957). A adaptação do método consistiu do tratamento prévio de 1g da amostra de solo com 1 mL de acido clorídrico concentrado em frasco do tipo penicilina de 10 mL de capacidade, a 70 °C por 10 minutos, a fim de promover a dissolução dos sulfetos metálicos solúveis presentes na amostra. O gás sulfídrico formado pela reação do sulfeto com o acido clorídrico adicionado, foi coletado através de purga de gás nitrogênio em dois lavadores de gás acoplados em serie, cada um contendo 10 mL de solução de hidróxido de cádmio. A formação de sulfeto foi evidenciada pelo surgimento de sulfeto de cádmio, um precipitado amarelado, cuja intensidade de coloração esta relacionada com a concentração de

sulfeto presente na amostra. Em cada lavador de gás foi adicionado 0,6 mL de ácido aminosulfúrico e em seguida o conteúdo foi transferido para um balão volumétrico de 25 mL de capacidade, sendo o volume completado após a adição de 2 gotas do indicador cloreto férrico.

A solução foi mantida em repouso por 30 minutos, sendo a leitura de absorvância feita em espectrofotômetro modelo HACH DR 12000 no comprimento de onda de 670 nm. A concentração de sulfeto foi expressa em mg/L, empregando-se curva-padrão previamente preparada com Na₂S monohidratado P.A., que se encontra em anexo.

4.4. Caracterização geotécnica

As caracterizações geotécnicas foram realizadas no Laboratório de Geotécnia do Departamento de Engenharia Civil da UFPE:

4.4.1. Ensaio de caracterização

Os ensaios de caracterização foram realizados de acordo com as normas da ABNT, indicadas abaixo.

NBR - 6457/86 - Preparação de amostras; NBR - 7181 - Análise granulométrica; NBR - 6508 - Massa específica dos grãos dos solos; NBR - 6459 - Limite de liquidez; NBR - 7180 - Limite de plasticidade; NBR - 14545 - Ensaio de permeabilidade.

4.5. Etapa experimental

4.5.1. Sistema Utilizado

Para a condução dos experimentos foram utilizados dois biorreatores que são apresentados na Figura 13. Esses sistemas consistiam em caixas plásticas com capacidade nominal de 100Kg e possuíam as seguintes dimensões: 52x36x18cm. Foram utilizados dois biorreatores, um para cada tipo de solo.



Figura 13. Biorreatores com os dois tipos de solo utilizados nos experimentos.

Os cupons metálicos foram dispostos internamente ao longo dos biorreatores, presos através de fios de nylon, enterrados na mesma profundidade e distantes entre si (7,2 cm) e a 9 cm de profundidade de modo a proporcionar a formação e crescimento de biofilme de forma regular em todos os cupons (Figura 14).

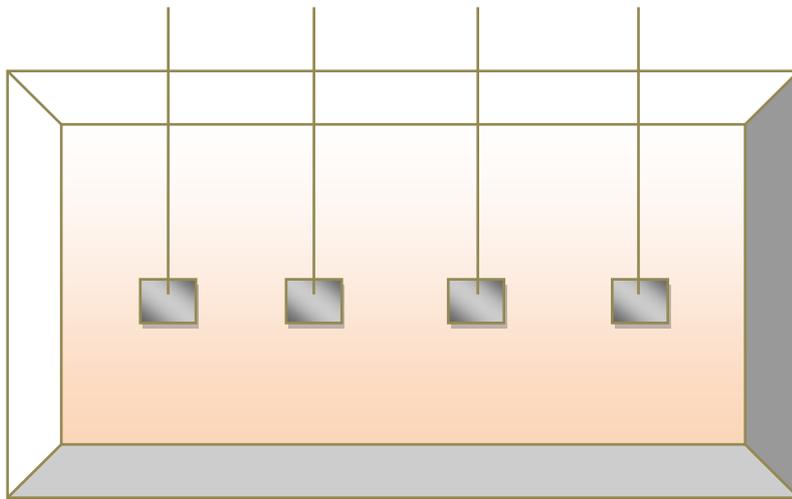


Figura 14. Diagrama da vista lateral dos cupons metálicos enterrados nos biorreatores.

Os experimentos foram realizados a temperatura constante de 25 °C por um período de 100 dias e os cupons retirados nos intervalos de 7, 15, 30,60 e 100 dias e foram utilizados 40 cupons para essa etapa.

4.6. Quantificação celular

Os micro-organismos quantificados foram as Bactérias Heterotróficas Aeróbias, Bactérias Precipitantes de Ferro, Bactérias Produtoras de Ácidos, Bactérias Anaeróbias Totais, Bactérias Redutoras de Sulfato e Fungos filamentosos. Os micro-organismos foram quantificados nos solos e nos biofilmes formados nos cupons metálicos.

4.7. Quantificação dos micro-organismos dos solos

As quantificações dos micro-organismos do solo foram realizadas na parte superficial e em profundidade de 1,0m com amostras do período inicial da coleta. No decorrer dos experimentos foram quantificados os micro-organismos do solo contidos no biorreator.

4.8. Avaliação da formação do biofilme

Foram inseridos nos biorreatores cupons de aço carbono API 5LX60 todos previamente jateados e pesados. Estes cupons foram removidos após 7, 15, 30, 60 e 100 dias de exposição ao solo, para a determinação quantitativa dos micro-organismos sésseis, taxa de corrosão, MEV e formação de pites.

4.9. Quantificação dos micro-organismos sésseis

Para quantificação dos micro-organismos sésseis, os cupons foram retirados do sistema e acondicionados em recipientes contendo solução fisiológica para quantificação de bactérias aeróbias e solução redutora para quantificação dos anaeróbios.

Os biofilmes formados nas superfícies dos cupons foram removidos através da raspagem da superfície do metal, com espátula estéril em soluções fisiológicas ou

reduzidas como descrito acima e submetidas durante 15 segundos ao ultrassom. Todos os procedimentos foram realizados em cabine de fluxo laminar obedecendo às normas da técnica asséptica (CRAVO, 2004).

As suspensões celulares assim obtidas foram utilizadas para quantificação de micro-organismos aeróbios e anaeróbios pela técnica do número mais provável (NMP) e por contagem em unidades formadoras de colônia (UFC/mL).

4.10. Teste em Branco

Um experimento em condições estéreis foi conduzido para se excluir o efeito microbiológico sobre a taxa de corrosão, permitindo verificar unicamente o grau de contribuição galvânica na deterioração dos cupons metálicos (TORRES, 2005).

Os testes foram realizados adicionando 0,75% de azida sódica ao meio com solo estéril e cupons desinfetados.

4.11. Crescimento microbiano e formação de biofilmes

Nesta etapa os ensaios foram realizados ao longo de 12 dias, com a retirada dos cupons a cada 48 horas. Deve-se, no entanto salientar, que a primeira retirada foi realizada com 24 horas. Somente na segunda retirada o intervalo passou a ser de 48 horas. Esse estudo foi feito para avaliar o comportamento dos micro-organismos na formação dos biofilmes em função do tempo.

4.12. Análises microbiológicas

As técnicas e meios seletivos utilizados nos experimentos serão descritos a seguir:

4.12.1. Bactérias heterotróficas aeróbias

Estas bactérias foram quantificadas através da técnica do número mais provável (NMP). A incubação foi feita em tubos de ensaio contendo 9,0mL de caldo nutriente e fechados com auxílio de rolhas de algodão. Estes tubos foram inoculados com 1,0mL das respectivas diluições e, incubados a $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ por 48 horas. As diluições foram feitas em solução salina (com salinidade igual a dos meios de cultura). O crescimento dos micro-organismos foi evidenciado pela turvação do meio de cultura, causada pela presença de células microbianas e seus metabólitos (SILVA, 2005).

Composição do meio: CALDO NUTRIENTE

Componentes	Quantidades (L)
Peptona de carne	5,0 g
Extrato de carne	3,0 g
Sacarose	20,0 g

O pH foi ajustado para 7,0. Em seguida o meio foi esterilizado em autoclave a 0,5atm, 110°C , por 15 minutos.

Após diluições sucessivas da suspensão celular os tubos contendo os meios foram inoculados e depois incubados a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas. O crescimento dos micro-organismos foi evidenciado pela turvação do meio de cultura, causada pela presença de células microbianas e seus metabólitos.

4.12.2. Bactérias precipitantes do ferro

A quantificação destas bactérias foi feita pela técnica do numero mais provável (NMP). A incubação foi feita em tubos de ensaio contendo 9,0mL de meio Citrato Férrico Amoniacal e fechados com auxílio de rolhas de algodão. Estes tubos foram inoculados com 1,0mL das respectivas diluições e, incubados a $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ por 14 dias, ao abrigo da luz. A formação de uma coloração avermelhada (ferruginosa), causada pela formação de óxidos de ferro, caracterizou o crescimento destes micro-organismos (CETESB, 1992).

Composição do meio:

CITRATO FÉRRICO AMONIAL VERDE

Componentes	Quantidades (L)
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,5 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0,2 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,5 g
NaNO_3	0,5 g
Citrato Férrico Amoniacal	10 g
K_2HPO_4	0,5 g

O pH do meio foi ajustado para 6,6 +- e a esterilização a 1 atm, 121 °C, por 20 minutos.

Os tubos foram inoculados incubados a 30 +- 1°C por 14 dias, ao abrigo de luz. A formação de uma coloração avermelhada, causada pela formação de óxidos de ferro (ferrugem), evidencia o crescimento destes micro-organismos.

4.12.3. Bactérias anaeróbias totais

Estas bactérias também foram quantificadas pela técnica do número mais provável (NMP) usando-se frascos do tipo penicilina (10mL de capacidade) contendo 9,0mL de meio fluido ao Tioglicolato, purgados com nitrogênio durante 20 minutos e 1,0mL das respectivas diluições (solução redutora). Os frascos contendo o meio de cultura foram vedados com tampas de borracha e lacres metálicos, a fim de manter anaerobiose. Em seguida serão inoculados com auxílio de seringas descartáveis de 1mL de capacidade, sendo incubados a $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ por 14 dias. Após este tempo, o crescimento destas bactérias foi identificado pela turvação do meio de cultura, causada pelo crescimento de células microbianas e a liberação de metabólitos (SILVA, 2005;VIEIRA;DEFRANÇA,2008).

Composição do meio:

SOLUÇÃO REDUTORA

Componentes	Quantidades (L)
Tioglicolato de sódio	0,124 g
Ácido ascórbico	0,1 g
Resazurina (0,025%)	4,0 mL

Ajustou-se o pH para 7,6 e autoclava-se a 1 atm, 121°C, por 20 minutos.

MEIO FLUIDO AO TIOGLICOLATO

Componentes	Composição
Caseína Enzimática Hidrolisada	15,0g
Extrato de Levedura	5,0g
Dextrose	5,50g
Cloreto de Sódio	2,50g
L-Cistina	0,50g
Tioglicolato de Sódio	0,50g
Resazurina	0,001g
Agar	0,75g
Água destilada	1000mL

O pH foi ajustado para 7,2. Após o preparo o meio foi esterilizado em autoclave a 1atm, 121°C, por 15 minutos.

4.12.4. Bactérias redutoras de sulfato (BRS)

A quantificação deste grupo microbiano foi igualmente feita pela técnica do NMP, aplicando-se a mesma metodologia descrita acima, no entanto, utilizando o meio Postgate E modificado. A determinação do crescimento celular foi feita após incubação a $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ por 14 dias. Após o período de incubação, o escurecimento do meio confirmará o crescimento das BRS. Essa coloração negra é consequência da formação de depósitos de sulfeto de ferro (POSTGATE, 1984).

Composição do meio:

POSTGATE E MODIFICADO

Componentes	Quantidades (L)
KH_2PO_4	0,5 g
NH_4Cl	1,0 g
Na_2SO_4	1,0 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,67 g
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1,68 g
Lactato de Sódio	7,0 mL
Extrato de Lêvedo	1,0 g
Ácido Ascórbico	0,1 g
Ágar-ágar	1,9 g
Resazurina (0,025%)	4,0 mL
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5 g

O pH do meio foi ajustado para 7,6 e a esterilização a 1atm, 121°C , por 20 minutos. Antes da inoculação dos frascos foi adicionado, a cada um deles, 0,1 mL de uma solução redutora de tioglicolato de sódio 12,4 g/L (esterilizada a 1 atm, 20 minutos). A determinação do crescimento celular será feita após incubação a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 28 dias. Após o período de incubação, o escurecimento do meio, devido a formação de depósitos de sulfeto de ferro, confirmou o crescimento das BRS. Essa coloração negra é consequência da formação de depósitos de sulfeto de ferro.

4.12.5. Bactérias aeróbias produtoras de ácidos

A quantificação de bactérias produtoras de ácidos foi realizada pela Técnica dos Tubos Múltiplos (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1998). Cada amostra diluída será inoculada com volumes de 10, 1 e 0,1mL em séries de 3 tubos contendo o meio caldo vermelho de fenol. Todos os tubos serão incubados 35°C por 24/48horas (TORRES, 2005).

Composição do meio:

CALDO VERMELHO DE FENOL

Componentes	Quantidades (g/l)
Triptona	10 g
Extrato de carne bovina	1 g
Cloreto de Sódio	5 g
Vermelho de Fenol	0,018 g

O pH do meio foi ajustado para 7,6 e a esterilização a 1atm, 121°C, por 20 minutos.

4.12.6. Fungos filamentosos

Este grupo microbiano foi quantificado através da contagem de unidades formadoras de colônias (UFC), usando a técnica “pour-plate”, em placas de Petri contendo Gelose Sabouraud. A determinação do crescimento celular foi feita após incubação a $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ por 5-7 dias (SILVA, 2005).

Composição do meio

Agar Dextrose de Sabouraud

Composição	Quantidades (g/l)
Peptona bacteriológica	5,00
Hidrolisado enzimático de caseína	5,00
Dextrose	40,00
Agar	15,00
Clorofenicol*	0,04%

Os meios de cultura para bactérias heterotróficas foram autoclavados a 0.5 atm durante 20 minutos. Os demais foram autoclavados à 1atm durante 20 minutos.

4.13. Avaliação da Diversidade Microbiana nos Solos

Este item da dissertação foi desenvolvido no Laboratório de Ecologia Microbiana Molecular, no Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Góes da UFRJ.

4.13.1. Extração de DNA total das amostras de solo

O DNA total dos solos argiloso e arenoso foi extraído através de lise mecânica. Para isso, foi utilizado o “kit” de extração para solo (FastDNA SPIN Kit for Soil) da BIO101 (Califórnia, EUA). Em microtubos contendo granada finamente moída, foi adicionado 0,5 g de solo, 978 µl de tampão fosfato e 122 µl de tampão MT. Estes tubos foram agitados horizontalmente por 40 s a 6 m/s^{-1} , em um FP120 FastPrep Cell Disruptor (BIO101, Vista, Califórnia). Em seguida, foi centrifugado por 10 min a 14000g e o sobrenadante foi transferido para um tubo limpo. À essa solução foi adicionado 250 µl de tampão PPS, agitando-se os tubos 10 vezes por inversão. Os tubos foram centrifugados por 5 min a 14000g e o sobrenadante coletado e transferido para um tubo de 15 ml limpo. Ao sobrenadante foi adicionado 1 ml de matriz de ligação,

agitando-se os tubos durante 2 min por inversão. Em seguida foram incubados por 3 min à temperatura ambiente e, em seguida, a matriz de ligação transferida para um filtro acoplado a um microtubo (Spin Filter, BIO101), os tubos foram centrifugados por 1 min a 14000g. A matriz de ligação retida no filtro foi lavada com 500 µl de solução SEWS-M com etanol, e o filtro centrifugado 2 vezes por 2 min a 14000g. Após 5 min de incubação à temperatura ambiente, foram adicionados 50 µl de água ultra pura ao filtro e centrifugado por 2 min a 14000g para que o DNA fosse carregado para um microtubo limpo.

A integridade do DNA foi verificada por eletroforese em gel de agarose 0,8% (p/v) em tampão TBE. A corrida foi realizada a 80V em tampão TBE 1X e tampão de corrida 1x durante aproximadamente 2 horas. O marcador de peso molecular utilizado foi o 1Kb Ladder (Fermentas). Ao fim da corrida, o gel era mantido à temperatura ambiente por aproximadamente 20 minutos em uma solução corante contendo gel red. Em seguida, o gel foi observado e fotografado sob luz UV no sistema de análise de imagens IMAGO (BEL, HOLANDA).

4.13.2. Amplificação do rRNA 16S

4.13.2.1. Bactéria

Utilizando um par de iniciadores universais, fragmentos do gene que codifica a subunidade 16S do rRNA de *Bacteria* foram amplificados por PCR, partindo das amostras de DNA total extraídas do solo. Os iniciadores selecionados foram U968f-GC1 (“grampo” + 5’ AAC GCG AAG AAC CTT AC 3’) e o L1401r (5’GCG TGT GTA CAA GAC CC 3’) (46). Nas reações de 50ul foi realizada uma mistura de tampão da enzima Taq-polimerase 1x, 2,5mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada dNTP, 20pmol de cada iniciador, 1% de formamida, 5ug de BSA, 2,5U Taq-polimerase (Invitrogen) e água Milli-Q estéril. Em cada reação foram aplicados cerca de 50ng de DNA ambiental. O programa de PCR utilizado compreende um ciclo de desnaturação das fitas de DNA por 3 min a 94°C, seguidos de 35 ciclos de 1 min a 94°C, 1 min a 55°C e 1 min a 72°C, e da extensão a 72°C por 10 min.

Os fragmentos obtidos foram submetidos à eletroforese horizontal em gel de agarose a 1,2% a 80 V em tampão TBE por aproximadamente 1,5 horas à temperatura

ambiente, para que pudesse ser observado se os fragmentos eram do tamanho esperado. Antes da corrida, aplicou-se uma solução tampão para eletroforese de DNA em gel de agarose em uma proporção de 1:1. Ao fim da corrida, o gel foi mantido à temperatura ambiente por aproximadamente 20 minutos em uma solução corante contendo gel red, para observar a eficiência da amplificação. Em seguida, o gel foi fotografado sob luz UV no sistema de análise de imagens IMAGO (BEL, HOLANDA).

4.13.3. DGGE

Os géis de DGGE foram preparados com solução de poliacrilamida (6%) em tampão Tris-acetato (pH 8,3). Foi estabelecido um gradiente desnaturante com formamida e uréia de 40% a 65% para Bactéria e de 40 a 70% para Archaea. Foram aplicados 40 μ l do produto de PCR no gel. O tempo de corrida foi de 16:00 h a 75 V a 60°C. Os géis foram corados com solução de SYBR Gold (Invitrogen), diluído na razão de 1,5:10.000 (v/v) em tampão TAE 1x, por aproximadamente 40 minutos no escuro. Em seguida, o gel foi observado e fotografados em um sistema de captura de imagem STORM (Pharmacia, Amersham). Os dendrogramas foram feitos a partir da imagem utilizando-se o coeficiente de correlação de Jaccard (r) e a análise de agrupamento foi feita utilizando-se o método de UPGMA do software BioNumerics.

4.14. Análises de caracterização das superfícies metálicas

Foram realizadas as seguintes técnicas para a caracterização das superfícies metálicas:

4.14.1. Microscopia Eletrônica de varredura (MEV)

As análises de microscopia foram realizadas no Centro de Tecnologia estratégicas do Norsdeste (CETENE) utilizando microscópio eletrônico de varredura marca JEOL, modelo 6460. Os cupons dos aços com biofilme foram recebidos em glutaraldeído 5% em tampão cacodilato de sódio 0,1M, preparado com água destilada. Permaneceram 24h nesta solução, depois foram lavados com o tampão cacodilato de sódio duas vezes, por

cerca de 10 minutos. Após esta etapa os cupons com biofilmes foram gradual e completamente desidratados em acetona (10% - 100%), antes da secagem destas amostras no aparelho ponto crítico (PENNA et al., 2002). Depois estas amostras foram metalizadas com ouro, para depois serem examinadas no microscópio de varrimento, entre 15 kV e 30 kV, com ampliações de 3000x, 11000x e 30000x.

4.14.2. Avaliação de corrosão localizada (Pite)

A avaliação da corrosão por pite foi realizada após a decapagem ácida, os cupons foram envernizados e antes da verificação em microscopia, os cupons foram desengordurados por imersão em acetona e secos com jato de ar quente para assegurar uma superfície uniforme e livre de imperfeições que poderiam comprometer a determinação da densidade e profundidade dos pites (Norma ASTM G 46/94, 2005). Após a finalização dos ensaios, os cupons foram retirados e submetidos à decapagem para remoção dos biofilmes e dos produtos de corrosão aderidos. Por fim, foram inspecionados com microscópio ótico Axion Plan 2 – Zeiss, com lente objetiva de 10X (aumento de 100X), quanto à presença e distribuição dos pites ao longo da superfície metálica corroída, em aumento de 50X, 100X e 200X. A profundidade dos pites foi determinada também com o auxílio do microscópio ótico Axion Plan 2 – Zeiss, com lente objetiva de 10X (aumento de 100X), utilizando um programa que correlaciona a diferença entre as leituras de foco do ajuste fino da superfície do metal e da base do pite, essa análise foi feita com 2 cupons de cada solo.

4.15. Taxa de corrosão através do método gravimétrico ou Ensaio de perda de massa.

Esta análise teve como objetivo avaliar o desgaste dos cupons metálicos enterrados nos diferentes solos estudados nas condições dos experimentos em laboratório.

Os cupons foram pesados antes do início do processo, e depois da retirada do biofilme formado, após serem tratados, a fim de se determinar a perda de peso por corrosão. O valor corresponde a diferença dos pesos de cada cupom antes e após os

ensaios, divididos pela área total do corpo de prova representa a massa perdida num dado tempo (DANTAS, 1998). Esses valores obtidos são uma media aritmética da perda de massa de 4 cupons.

O tratamento recebido pelos cupons após retirada do biofilme consistiu em uma decapagem ácida em solução de ácido clorídrico 26% por 5 segundos, lavagem com água corrente, neutralizados com solução de NaOH a 10% durante 5 segundos e novamente lavados em água corrente e após esse processo foram imersos em álcool isopropílico por 5 segundos e em acetona por mais 5 segundos. Foram levados para estufa a 70°C por 30 minutos, e em seguida, mantidos em dessecador para garantir a retirada de toda umidade até o momento da pesagem. Os dados obtidos foram utilizados para a determinação da taxa de corrosão, em mm/ano (DANTAS, 1988).

Com intuito de avaliar a taxa de corrosão do aço carbono durante o ensaio de perda de massa, foi adotada a norma NACE RP-07-75 (1999) que define a intensidade do processo corrosivo.

Tabela 8. Classificação da taxa de corrosão do aço carbono.

Taxa de corrosão uniforme (mm/ano)	Taxa de pite (mm/ano)	Corrosividade
< 0,025	< 0,13	Baixa
0,025 a 0,120	0,130 a 0,200	Moderada
0,130 a 0,250	0,210 a 0,380	Alta
> 0,250	> 0,380	Severa

Os resultados de perda de massa foram utilizados no cálculo da taxa de corrosão de acordo com a seguinte equação:

$$\text{taxa de corrosão (mm/ano)} = 3650 \cdot \frac{\Delta m}{\Delta t} \cdot \frac{1}{d \cdot A} \quad (1)$$

Sendo $\Delta m \rightarrow$ perda de peso após o período de exposição (g)

$\Delta t \rightarrow$ período de exposição (dias)

$d \rightarrow$ densidade do aço carbono API 5LX60 (7,8 g/cm³)

$A \rightarrow$ área superficial do cupom (cm²).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análises físico-químicas do solo

As determinações do pH, teor de umidade, carbono orgânico, fósforo total, condutividade elétrica, cloretos, sulfatos, potencial redox e os teores dos metais são muitos importantes pois fornecem informações sobre o comportamento dos solos estudados e que podem estar influenciando diretamente no metabolismo dos microorganismos, e conseqüentemente no processo corrosivo (GENTIL, 2007). As análises foram realizadas com amostras de solos da profundidade de 1,0m no tempo inicial e após 100 dias de exposição aos cupons metálicos.

A Tabela 9 mostra toda a caracterização físico-química do solo. O solo argiloso foi caracterizado como ácido, seu pH está em torno de $4,4 \pm 0,2$. Já o solo arenoso apresentou pH neutro em torno de $6,8 \pm 0,2$ no início do processo. Ao final de 100 dias o pH do solo arenoso diminuiu ficando em torno de $5,46 \pm 0,2$, tornando-o um pouco ácido. Em condição de alta acidez, a atividade biológica é reduzida, sendo a intensidade de influência bastante variável (SOUSA et al., 1989).

O pH do solo foi um dos primeiros parâmetros a ser avaliado pois é um indicativo da disponibilidade dos nutrientes contidos no solo (ALCARDE *et al.*, 1991). Sabe-se que a maior parte dos nutrientes (K, Ca, Mg, N, P) estão menos disponíveis em valores baixos de pH e alguns, como Fe, Mn e Zn mostram comportamento inverso (Da SILVA e De SOUSA, 1998).

Segundo Sanches e Salinas (1983), a acidez do solo é o fator que mais interfere na produtividade, especialmente nas regiões tropicais. Solos com pH abaixo de 5,5 geralmente tem baixa disponibilidade de cálcio, magnésio e fósforo.

Larson e Pierce (1994) relataram que o teor carbono orgânico atua nos atributos químicos, físicos e biológicos do solo. No nosso estudo, o teor de carbono orgânico encontrado inicialmente foi muito baixo. No solo argiloso o teor foi de 0,325 mg/Kg, e no solo arenoso foi de 0,41 mg/Kg. As variações do teor de carbono influenciam na atividade microbiana que o utilizam para sua manutenção (SOUZA *et al.*, 2006).

O Nitrogênio no solo argiloso foi de 11,15 mg/Kg e no solo arenoso foi de 93,42 mg/Kg, no solo argiloso essa quantidade está relacionada com teor de carbono total, porém no solo arenoso esse valor foi desproporcional, por ter sido originado de um solo de rejeitos químicos.

Os resultados dos teores de N dos solos estão de acordo com os obtidos por Raij (1991), que ao estudar a variação do teor de N de vários tipos de solo verificou que a concentração de N praticamente não sofreu grandes alterações nem em períodos de curto prazo, ou mesmo no período de alguns anos.

Os resultados apresentados na Tabela 9 mostram a ausência de cálcio em todo o processo nos dois solos estudados. Os teores de magnésio foram muito inexpressivos no solo argiloso, enquanto que no solo arenoso houve ausência desse nutriente. Em relação ao fósforo, no início do processo a quantidade desse micronutriente foi muito pequena com o valor de 0,06 (mg/Kg) nos dois tipos de solos. Ao final do processo, o solo argiloso apresentou ausência desse elemento. Enquanto que no solo arenoso o valor foi de 0,00665 (mg/Kg).

As quantidades de Ferro e Alumínio foram maiores no solo argiloso do que no solo arenoso. No solo argiloso o Alumínio teve um valor de 1,66 (mg/Kg) no início do processo e ao final houve pouca redução para 1,48 (mg/Kg). O ferro também teve valores maiores no solo argiloso tendo um valor de 1,24 (mg/Kg) no começo e ao final de 1,56 (mg/Kg). Observa-se que com um pH maior esses valores diminuíram, isso foi verificado no solo arenoso, que tem um pH de $6,8 \pm 0,2$.

De acordo com o Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo (2000) o sódio é um metal alcalino, que juntamente com o cálcio, magnésio e o potássio, constituem os cátions trocáveis do solo. Quanto mais alta a porcentagem de sódio entre os cátions trocáveis, menor será a saturação dos sítios de troca do solo ocupados pelo cálcio, magnésio e potássio. Isso explica os valores das análises, o sódio no solo argiloso teve um valor de 0,165 (mg/Kg) no início das análises e 0,75 (mg/Kg) no final do processo. O solo arenoso no início das análises obteve um valor de 0,1325 (mg/Kg) e no final obteve um valor de 0,3 (mg/Kg). Esses valores do sódio contribuíram para as quantidades de cálcio, magnésio e potássio mostradas anteriormente.

Os cloretos contribuem para a toxicidade de um solo. Nos experimentos não houve presença de cloretos nos solos estudados. Como a toxicidade dos solos está relacionada aos íons sódio e cloreto, observou-se que a toxicidade desses solos foi influenciada somente pelos íons Sódio.

De um modo geral, a salinidade do solo pode ser medida pela determinação da condutividade elétrica (CE_{25°C}) e, quanto maior for a condutividade elétrica maior sua salinidade (Da SILVA e De SOUSA, 1998). As análises mostraram essa relação, pois a condutividade elétrica no solo argiloso foi de 10,0 S/cm no início das análises e ao final quando a condutividade aumentou para 42,85 S/cm, a quantidade de sódio também aumentou. O mesmo ocorreu para o solo arenoso

Segundo Videla (2003) o sulfato é utilizado como fonte de enxofre, sendo reduzido a sulfetos orgânicos por meio da redução assimiladora de sulfatos, outra via metabólica seria o sulfato atuar como receptor terminal de elétrons, na respiração anaeróbia que produz hidrogênio sulfetado, segundo redução desassimiladora de sulfatos. Os sulfatos e sulfetos estão presentes neste solo, em relação ao sulfato em ambos os solos suas concentrações aumentaram, no sulfeto suas concentrações permaneceram praticamente a mesma. Os sulfatos e sulfetos são íons importantes para o processo corrosivo.

Tabela 9. Caracterização física – química do solo.

Caracterização do solo	do			
	Início processo	Final (100 dias do processo)		
	Teor (solo argiloso)	Teor (solo arenoso)	Teor(solo argiloso)	Teor (solo arenoso)
Carbono Orgânico (mg/Kg)	0,325	0,41	0,22	0,4
Nitrogênio (mg/Kg)	11,15	93,42	10,9	90
Fósforo (mg/Kg)	0,06	0,06	Ausência	0,00665
Sulfato (mg/Kg)	0,2	0,24	1,094	1,027
Sulfeto (mg/Kg)	0,5	0,13	0,4	0,11
Cloreto (mg/Kg)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
pH	4,6	6,8	4,55	5,46
Umidade (%)	17	10	17	10
CRA ¹ (%)	12	7	12	7
Potencial Redox (mVenh)	137,5 mV	103,5 mV	110,5 mV	58,45 mV
Alumínio (ppm)	1,66	2,44	1,48	0,22
Condutividade Elétrica	10,0 S/cm	18 S/cm	42,85 S/cm	26,4 S/cm
Magnésio (ppm)	0,0015	Ausência	0,006025	Ausência
Sódio (ppm)	0,165	0,1325	0,75	0,3
Potássio (ppm)	0,03	0,19	0,09	0,28
Cálcio (ppm)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
Manganês (ppm)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
Chumbo (ppm)	0,0148	0,0165	0,0057	0,00095
Ferro (ppm)	1,24	0,1026	1,56	0,225
Zinco (ppm)	0,012	0,018	0,013	0,014

5.2. Análises geotécnicas do solo

Foi realizada a caracterização geotécnica dos solos e determinada a sua permeabilidade. Esses parâmetros são de grande importância para compreender o comportamento do solo que pode vir a influenciar no metabolismo dos micro-organismos. Essas análises foram realizadas com o solo no seu período inicial.

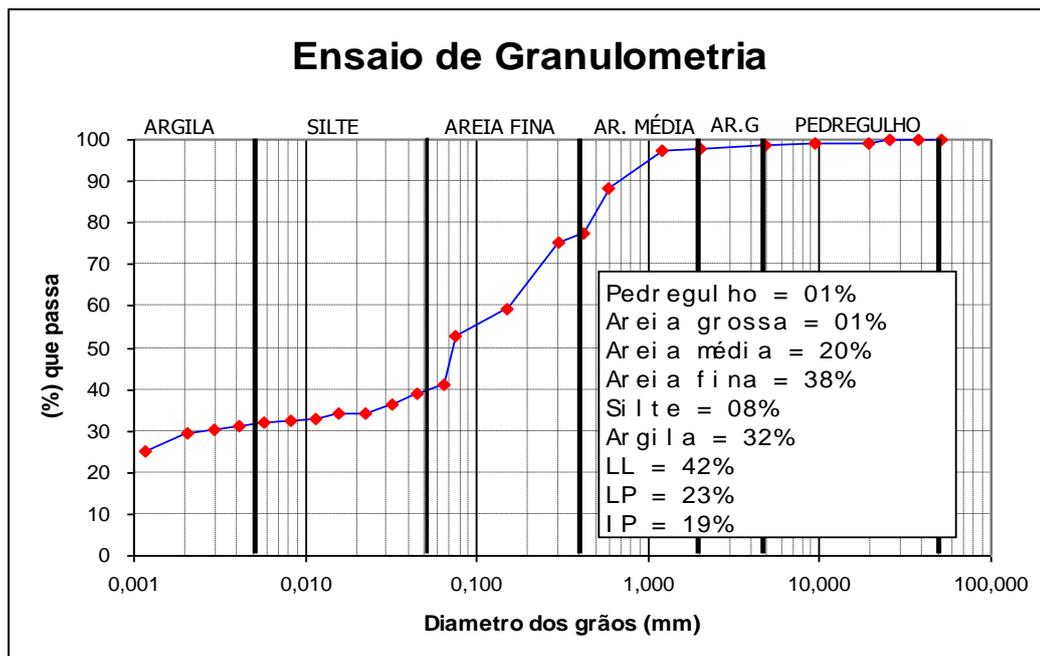


Figura 15. Curva granulométrica por peneiramento e sedimentação de uma amostra de solo argiloso.

O solo arenoso (Figura 16) apresentou % de finos (argila + silte) de 14%, sendo o restante composto de areia. Por outro lado, o solo argiloso (Figura 15) apresentou teor de finos de 40%, 59% de areia (38% de areia fina, 20 % de areia média, 1% de areia grossa) e 1% de pedregulho.

O percentual de finos em uma matriz de solo tem relação com a capacidade de retenção de água; quanto maior a percentagem de finos, maior a retenção de água (REVERS & SHIPP, 1978). Desta forma, o solo arenoso tem menor capacidade de retenção que o solo argiloso conforme pode ser observado nas Figuras 15 e 16.

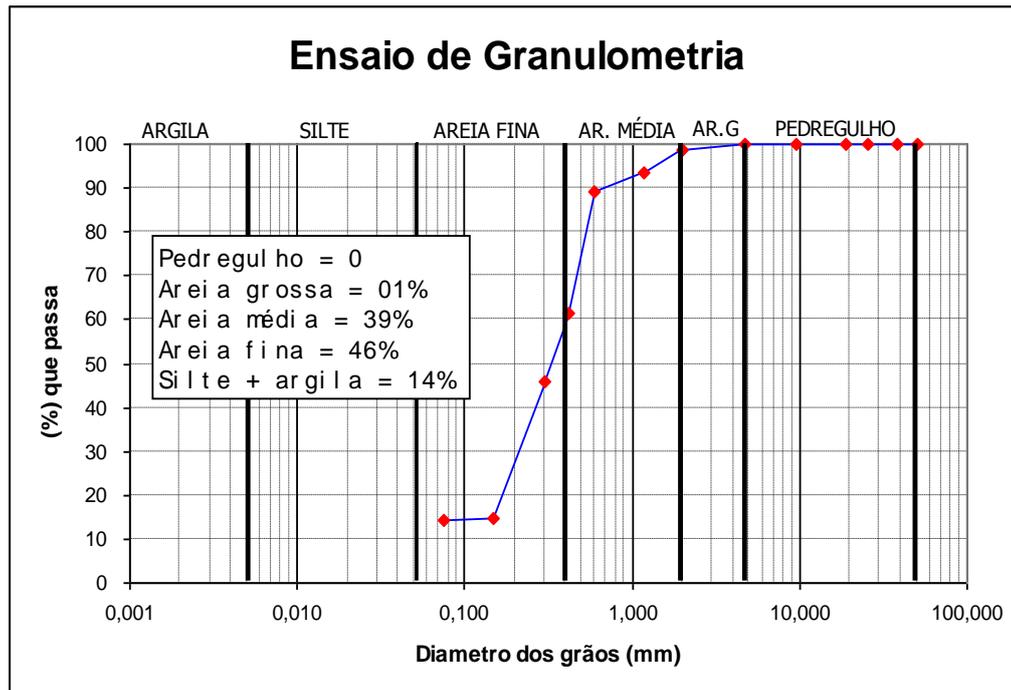


Figura 16. Curva granulométrica por peneiramento e sedimentação de uma amostra de solo arenoso.

A Tabela 10 apresenta os resultados da caracterização geotécnica dos solos argilosos e arenoso mostrados nas figuras acima. O Limite de Liquidez (LL) é definido como a umidade abaixo da qual o solo se comporta como material plástico é a umidade de transição entre os estados líquidos e plásticos do solo. O Limite de Plasticidade, (LP) é definido como o teor de umidade abaixo do qual o solo deixa de ser plástico, tornando-se quebradiço; é a umidade de transição entre os estados plásticos e semi-sólidos do. O índice de plasticidade (IP) é a diferença entre o limite de liquidez e o limite de plasticidade (PINTO, 2002). No solo arenoso não foi possível determinar os LL e LP, pois se trata de um solo não plástico (NP).

Tabela 9. Ensaio de caracterização, peneiramento e permeabilidade.

Amostra	Pedregulho (%)	Areia grossa (%)	Areia média (%)	Areia fina (%)	Silte (%)	Argila (%)	LL (%)	LP (%)	IP (%)
Solo argiloso	1	1	20	38	8	32	42	23	19
Areia	0	1	39	46	X	Y	-	NP	-

$$X + Y = 14\%$$

LL - Limite de liquidez

LP – Limite de plasticidade

IP – Índice de plasticidade

NL – Não líquido

NP – Não plástico

A permeabilidade de um solo é a propriedade do sistema poroso que permite o fluxo de líquidos. Normalmente, o tamanho dos poros e sua conectividade determinam se o solo possui alta ou baixa permeabilidade. Quanto maior for a permeabilidade do solo, menor é a sua capacidade de retenção da água.

Os resultados mostraram que o solo argiloso possui uma permeabilidade de $5,56 \times 10^{-7}$ cm/s, conseqüentemente esse solo tem uma maior capacidade de retenção de água que o solo arenoso cuja permeabilidade é de $3,75 \times 10^{-3}$ cm/s.

Essas análises de granulometria e permeabilidade são de grande importância para estudar o comportamento desse solo do ponto de vista de retenção de água. Outra característica que influencia o processo de biocorrosão é a umidade do solo, que, por este motivo foi monitorada ao longo dos experimentos.

5.3. Experimentos com cupons de aço carbono API 5LX60

5.3.1. Quantificação dos micro-organismos do solo

No início dos experimentos, para os dois tipos de solos (argiloso e arenoso) foram feitas quantificações dos micro-organismos existentes na superfície e na profundidade de 1,0 m.

Os micro-organismos do solo atuam nos processos de decomposição da matéria orgânica, participando diretamente no ciclo biogeoquímico dos nutrientes e, consequentemente, mediando sua disponibilidade no solo (BALOTA *et al*, 1998).

Nesta fase da pesquisa foram quantificados os seguintes grupos de micro-organismos: Bactérias heterotróficas aeróbias, Bactérias precipitantes de ferro, Bactérias anaeróbias totais, Bactérias produtoras de ácido aeróbias, BRS e Fungos filamentosos

A Figura 17 mostra a concentração de células microbianas encontradas na superfície e na profundidade do solo argiloso. Observou-se que a concentração de bactérias na superfície foi maior que as bactérias encontradas em profundidade. Este resultado está de acordo com Moreira & Siqueira (2006) que afirmaram que em um horizonte superficial haverá uma maior quantidade de micro-organismos devido à quantidade superior de matéria orgânica.

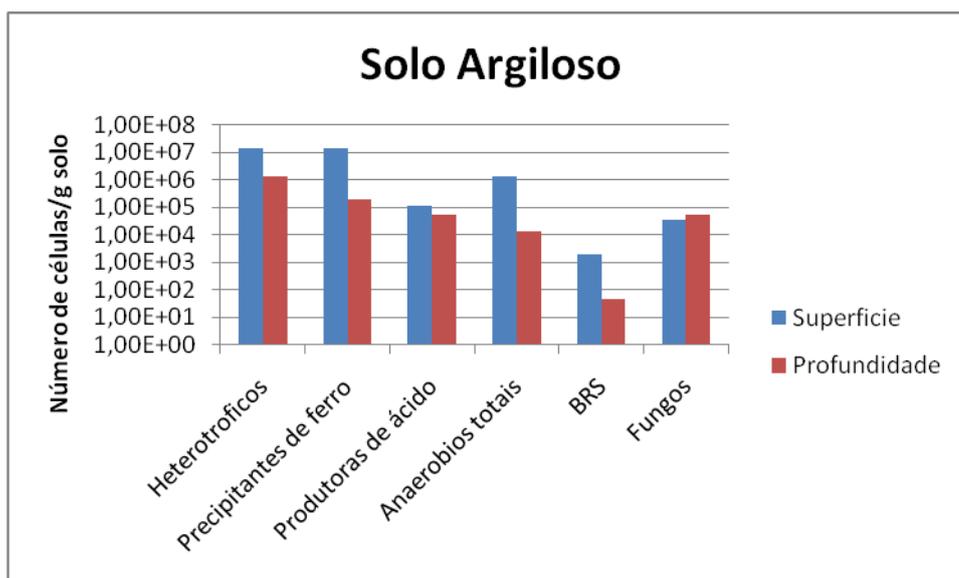


Figura 17. Perfil de concentração das bactérias e fungos na superfície e na profundidade de 1,0 m argiloso.

Como o solo é dividido em horizontes, o pH se altera com a profundidade assim como a quantidade de micro-organismos existentes. De acordo com Lima *et al* (2004) o pH muda com a profundidade, sendo em solos superficiais menos ácido.

Os fungos apresentaram maiores concentração na profundidade que na superfície. Os fungos se adaptam em ambientes com pH menor que 5, enquanto que as bactérias, incluindo os actinomicetos, são mais adaptados a valores de pH próximos do neutro, entre 6 e 8. Várias exceções como as bactérias autotróficas oxidantes de enxofre e ferro toleram pH menor que 1 (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

As bactérias precipitantes de ferro e heterotróficas aeróbias apresentaram as mais altas concentrações celulares. As bactérias estão presentes no solo em densidade de 10^7 células/g solo, das quais 10^6 correspondem à população de aeróbias (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Cury (2002) analisando solo de Santos – SP detectou bactérias heterotróficas anaeróbias totais na ordem de 10^5 UFC/g solo e Rodrigues (2010) estudou solos que apresentavam microbiota nativa de bactérias heterotróficas aeróbias cultiváveis em valor expressivo de $2,1 \times 10^6$ UFC/g solo. Os dois valores encontrados pelos pesquisadores foram inferiores aos encontrados nos experimentos com o solo argiloso.

Nos experimentos as bactérias redutoras de sulfato (BRS) foram encontradas tanto na superfície como em profundidade em uma concentração significativa variando de 10^1 a 10^3 . Vários fatores estão envolvidos na corrosão influenciada pelas BRS. Videla em 2003 e 2005, afirmou que em meios com pH na faixa da neutralidade os íons sulfeto levam a formação de filmes de FeS fracamente protetores. Ma (2000) afirma que a característica protetora dos filmes de sulfetos depende do tempo de exposição e também da sua concentração do meio (abaixo de 7,2 mg/L), e não apenas do pH.

As bactérias produtoras de ácidos foram detectadas no solo argiloso em maior concentração na superfície, diminuindo os valores com a profundidade. Vale ressaltar que estas bactérias são agressivas e podem atuar fortemente no processo corrosivo pois produzem vários tipos de ácidos: láctico, acético, protônico, fórmico e úrico (BOGAN *et al*, 2004).

A Figura 18 mostra a concentração das bactérias e fungos na superfície e na profundidade de 1,0m do solo arenoso. Nesse solo não há presença das BRS e bactérias

produtoras de ácido, o que leva a concluir que este solo tem características menos agressivas que o solo argiloso.

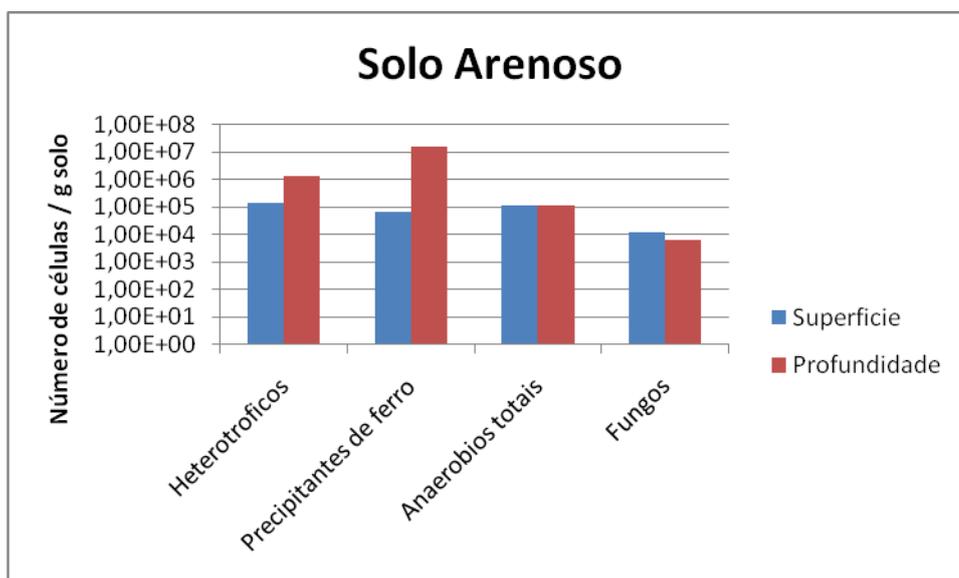


Figura 18. Concentração das bactérias e fungos na superfície e na profundidade de 1,0m do solo arenoso.

Neste solo foi observada a presença de bactérias heterotróficas, bactérias precipitantes de ferro, bactérias anaeróbias totais e fungos em concentrações inferiores ao solo argiloso. Na profundidade de 1,0m as bactérias heterotróficas e precipitantes de ferro estiveram em maior concentração, as bactérias anaeróbias totais, tanto na profundidade quanto na superfície, apresentaram as mesmas concentrações. A concentração de fungos foi maior na superfície diferentemente da concentração encontrada no solo argiloso. Este fato pode ser explicado pela mistura e manuseio realizada para aterrar a área estudada.

Segundo Lopes (2006) os solos arenosos apresentam uma série de limitações em relação à baixa fertilidade natural, pois são deficientes em quase todos os nutrientes essenciais aos micro-organismos. Em geral tem um pH ácido e baixíssimos teores de matéria orgânica. Diferentemente dos resultados esperados encontrou-se, no solo arenoso da região, um pH próximo da neutralidade, $6,8 \pm 0,2$, favorável ao crescimento de micro-organismos.

Segundo Videla (2003) a ausência de Nitrogênio limita o crescimento e a atividade celular, já o excesso pode favorecer o crescimento descontrolado de algumas espécies em detrimento de outras. Como o solo em estudo apresentou grandes concentrações de nitrogênio, isso juntamente com o pH pode explicar o crescimento das bactérias heterotróficas e precipitantes de ferro na profundidade.

Esses resultados do solo arenoso foram contrários aos resultados obtidos pelo solo argiloso. Provavelmente, isso ocorreu pela natureza modificada do solo arenoso que inicialmente foi caracterizado como solo de mangue, passando por modificações e tornando-se um solo arenoso.

5.3.2. Quantificação dos micro-organismos sésseis

A quantificação dos micro-organismos sésseis foi feita com a suspensão preparada mediante a retirada das células aderidas ao material dos cupons metálicos nos períodos de 7, 15, 30, 60 e 100 dias.

As bactérias sésseis têm um comportamento diferente das bactérias de vida livre e das cultivadas em meios seletivos de isolamento. O metabolismo bacteriano é diferenciado devido à presença de outros micro-organismos e da nova condição adotada (fixação em superfície). Um exemplo de modificação do metabolismo é a produção de metabólitos poliméricos (MPE), secretados por estes micro-organismos (COETSER e CLOETE, 2005).

A população séssil passa por um processo de transporte, adsorção e adaptação para que possa se fixar à superfície metálica. Além disso, no biofilme co-existem diferentes populações cuja atividade pode ser inibitória ou letal para células circunvizinhas e, ainda, a baixa circulação de água, veículo essencial para o transporte de nutrientes para as regiões mais internas do biofilme (ROMERO, 2007; ROMERO *et al.*, 2008).

A Figura 19 mostra a presença de diferentes grupos microbianos na superfície do metal em função do tempo de exposição.

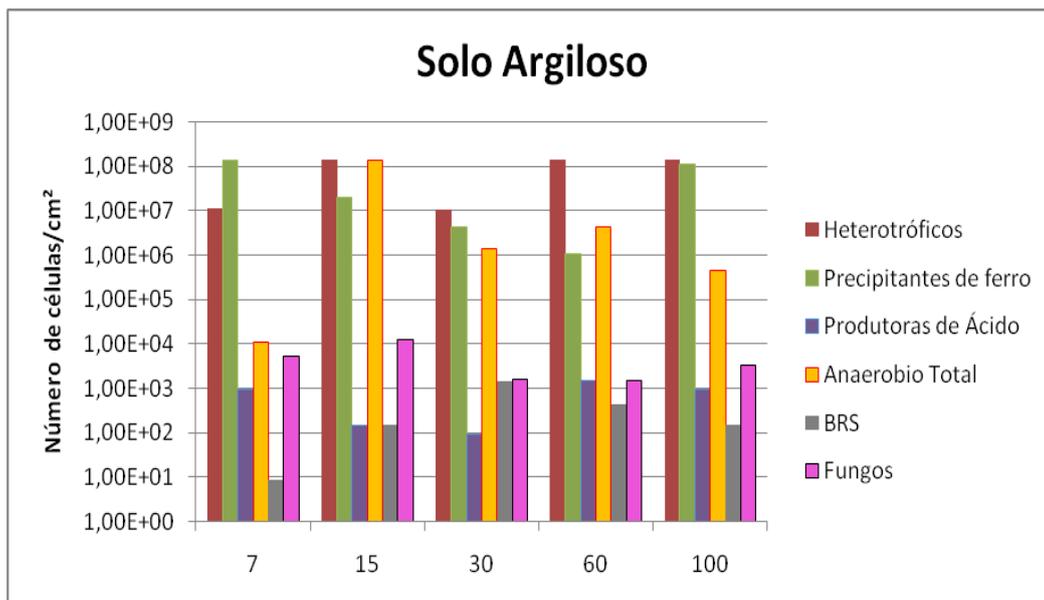


Figura 19. Concentração de micro-organismos em biofilmes formados nos cupons de aço carbono API 5LX60, em função do tempo de exposição.

Foi observado que as bactérias precipitantes de ferro apresentaram crescimento máximo em 7 dias com uma concentração de 10^8 células/cm². Posteriormente essa população microbiana diminuiu e ao final de 100 dias voltou a ter uma concentração de 10^8 células/cm². O mesmo ocorreu com as bactérias heterotróficas aeróbias, que apresentaram uma concentração de 10^7 células/cm², e ao final de 100 dias apresentou uma concentração de 10^8 células/cm².

Rodrigues (2010) estudou o efeito do potencial de proteção catódica sobre a biocorrosão de aço-carbono em solo contendo BRS e mostrou que para uma maior concentração de BRS adicionada ao solo observou-se queda na concentração de heterotróficas cultiváveis. Em contrapartida, para menores concentrações de BRS o número de heterotróficas cultiváveis foi maior. Neste trabalho, as concentrações de BRS e bactérias Heterotróficas também tiveram comportamento semelhante, no período de 30 dias. As BRS tiveram um máximo de 10^3 células/cm² e as bactérias heterotróficas tiveram um mínimo de 10^6 células/cm².

As produtoras de ácidos têm um efeito sinérgico com as BRS, elas secretam ácidos que podem ser metabolizados pelas BRS. Inicialmente as bactérias produtoras de ácido atingiram a concentração de 10^3 células/cm² e as BRS uma concentração de 10^1

células/cm². No período de 30 dias as BRS alcançaram um máximo de 10³ células/cm² e as produtoras de ácido um mínimo de 10² células/cm². Segundo Moreira e Siqueira (2006) os micro-organismos interagem entre si, essa interação tem efeitos positivos ou negativos. A competição entre micro-organismos, uma interação negativa, é um fenômeno importante no solo no que se refere ao consumo de nutrientes necessários à sobrevivência, sendo benéfico, pois evita o crescimento de um único nicho.

Todos os micro-organismos no desenvolvimento deste trabalho tiveram essas interações, isso justifica o perfil das concentrações das bactérias em todo o período de 100 dias estudado.

A Figura 20 mostra a concentração de micro-organismos em biofilmes formados sobre cupons de aço carbono API 5LX60, em função do tempo de exposição no solo arenoso.

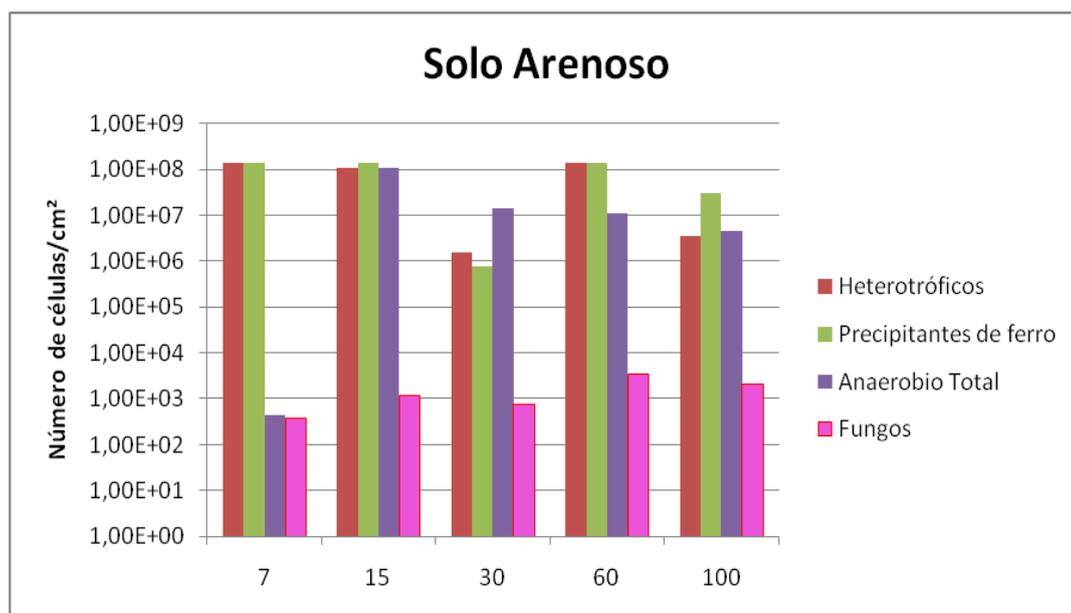


Figura 20. Concentração de micro-organismos em biofilmes formados sobre cupons de aço carbono API 5LX60, em função do tempo de exposição.

As bactérias anaeróbias totais nos 2 solos estudados tiveram um comportamento semelhante. No período de 7 dias apresentaram baixas concentrações em torno de 10³ células/cm² no solo arenoso e 10⁴ células/cm² no solo argiloso. Isso mostrou que a quantidade de oxigênio no sistema foi bem maior inicialmente, atingindo um máximo em 15 dias com uma concentração de 10⁸ células/cm² em ambos os solos. Ao final de

100 dias as concentrações celulares diminuíram nos 2 solos estudados, isso pode ser explicado pela a quantidade de oxigênio que consumido ao longo do tempo.

Dantas (2009) trabalhou com cupons de aço carbono AISI 1005 em água do mar da região de SUAPE e observou que as bactérias precipitantes do ferro e as anaeróbias totais foram os micro-organismos que atingiram a mais alta concentração celular nos primeiros 15 dias de experimento.

As bactérias precipitantes de ferro e as bactérias heterotróficas aeróbias tiveram um comportamento semelhante no solo arenoso, sugerindo uma interação entre esses micro-organismos, tanto no solo como nos cupons. Segundo Rodrigues (2010) essas bactérias são produtoras de exopolissacarídeos importantes para a formação e estabelecimento do biofilme, visto o seu papel essencial na adesão de micro-organismos à superfícies inertes.

As concentrações dos fungos não variaram muito ao longo do experimento, corroborando com os resultados de Lutterbach e De França (1996) que ao estudarem a formação de biofilme em cupons AISI 304 observaram que a concentração de fungos filamentosos permaneceu constante durante todo ensaio.

As características físico-químicas, geotécnicas e microbiológicas e as interações entre os micro-organismos do solo contribuem para que haja variação do perfil das concentrações celulares durante o período estudado. Pode-se dar destaque à variação do pH que iniciou em $6,8 \pm 0,2$ e finalizou com $5,46 \pm 0,2$, tornando o solo levemente ácido, isso provavelmente interferiu na atividade microbiana pois há a formação de metabolitos de caráter ácido e também as reações físico-químicas que se processam entre os componentes do solo.

5.4. Cinética de formação dos biofilmes nos cupons de aço carbono API5LX60 no solo argiloso

A Figura 21 mostra o perfil de formação de biofilme do aço carbono API5LX60 em solo argiloso durante o período de 12 dias. Observou-se que os primeiros dias de exposição ao solo foram suficientes para ocorrer à adesão dos micro-organismos nas

superfícies metálicas. De uma maneira geral o crescimento microbiano atingiu o valor máximo em 96 horas.

Os micro-organismos estão distribuídos na natureza e apresentam tendência natural de aderir às superfícies que ofereçam condições favoráveis ao seu desenvolvimento, formando estruturas denominadas de biofilmes.

Os biofilmes ocorrem tanto em ambientes naturais quanto industriais, especialmente quando na fase aquosa há limitação de nutrientes. A adsorção microbiana às superfícies sólidas é uma conhecida estratégia adotada por micro-organismos em meio oligotrófico, de forma a beneficiarem-se do acúmulo de nutrientes sobre as superfícies (CHARACKLIS e MARSHALL, 1990).

Alguns estudos estão voltados para a investigação da cinética de crescimento individual dos principais micro-organismos responsáveis pelo processo de biocorrosão (CHANG, 1996; RAINHA; FONSECA, 1997; CABRERA *et al.*, 2005; PALLUD; CAPPELLEN, 2006; CHOU *et al.*, 2008), enquanto outros estão voltados para estudo da cinética de formação de biofilme em superfície metálica (TORRES, 2005; GONÇALVES, 2002). Ambos os estudos ressaltam a importância destas investigações no processo de biocorrosão.

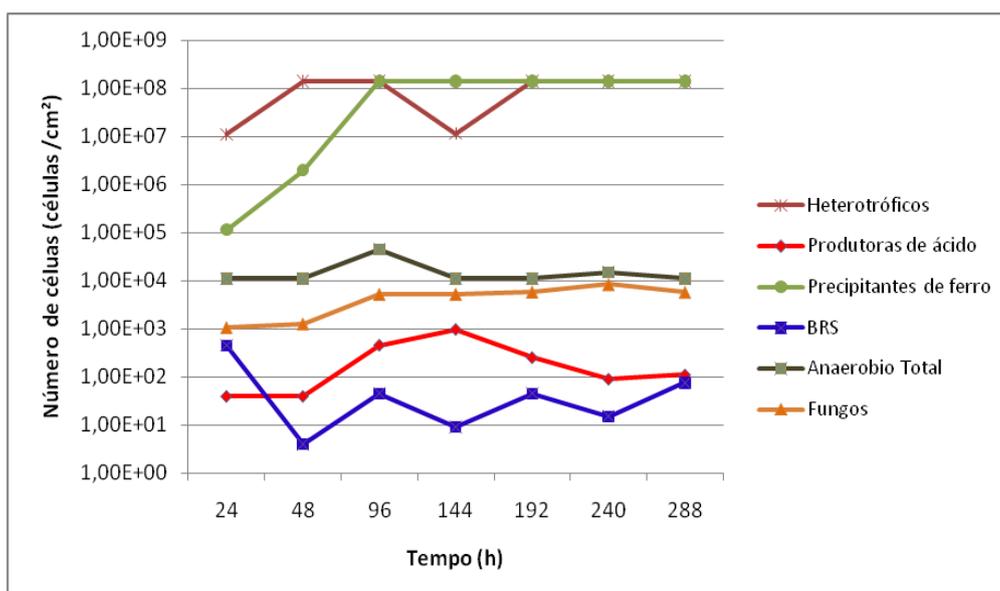


Figura 21. Perfil de crescimento microbiano e formação de biofilmes em cupons de aço carbono API5LX60 no solo argiloso.

No estudo do perfil de crescimento de micro-organismos do solo argiloso, observou-se que as precipitantes de ferro e as bactérias heterotróficas aeróbias apresentaram um crescimento microbiano em seu período inicial, e ao fim de 12 dias percebeu-se que essas bactérias mantiveram suas concentrações praticamente constantes. No solo estudado observou-se que as bactérias aeróbias heterotróficas e as precipitantes de ferro apresentaram um crescimento mais acelerado, aumentando uma ordem de grandeza em 24 horas.

Dantas (2009) estudou o perfil do crescimento microbiano na formação de biofilmes em cupons de aço carbono SAE 1008 em água do mar da região de SUAPE, e observou que as bactérias aeróbias apresentaram crescimento mais lento, atingindo o valor máximo de células $7,2 \times 10^5$ célula/cm² no sexto dia de experimento. Já as precipitantes de ferro apresentaram mais alta concentração celular, atingindo valor máximo de $1,2 \times 10^7$ célula/cm² no quarto dia de experimento. Vale apenas ressaltar que tanto na água do mar como nos solos estudados de SUAPE houve uma predominância das bactérias precipitantes do ferro.

As bactérias anaeróbias totais permaneceram com praticamente com as mesmas concentrações no início ao final do processo.

Com relação aos fungos filamentosos não houve grandes variações no período estudado. Segundo Gonçalves (2002) a quantificação de fungos é importante devido as suas hifas formarem estruturas que mantêm as bactérias aderidas ao biofilme como uma malha.

As bactérias produtoras de ácido apresentaram baixas concentrações em todo processo e no 9º dia apresentou um máximo de 10^3 células/cm². As BRS tiveram um comportamento diferenciado, pois ao longo de todo processo ocorreram variações na mesma faixa de concentração. Esses dois grupos de bactérias como foi visto anteriormente, possui uma sinergia, pois as BRS se alimentam dos produtos metabólicos das produtoras de ácido.

5.5. Avaliação da corrosividade dos solos

A corrosividade dos solos foi feita segundo a classificação de Steinrath. Os resultados obtidos para os sete parâmetros estão apresentados na Tabela 11 onde pôde-

se observar os índices parciais e totais para cada parâmetro analisado. Essa avaliação foi feita com os solos no início dos experimentos.

Tabela 10. Avaliação da agressividade dos solos baseada no Índice de Steinrath.

Parâmetros do solo	Solo Argiloso		Solo Arenoso	
	Valor Medido	Índice parcial	Valor Medido	Índice parcial
Resistividade (Ohm.cm)	2000	-2	2500	-2
Umidade (%)	17,4	0	10	0
pH	4,4	-1	6,8	0
Potencial Redox (mVenh)	110,15	-2	58,45	-2
Cloreto (mg/Kg)	Ausência	0	Ausência	0
Sulfeto (mg/Kg)	0,51	-4	0,13	-2
Sulfato (mg/Kg)	0,2	0	0,24	0
Índice Total de agressividade		-9		-6
Classificação do solo	Média agressividade		Pouca agressividade	

Segundo esta avaliação de corrosividade proposta por Steinrath, os solos argiloso e arenoso apresentaram uma classificação de média e pouca agressividade respectivamente. No solo argiloso o índice total de agressividade foi de -9 e no solo arenoso foi de -6. O Índice de Steinrath não pode ser considerado totalmente correto, pois há diferença entre um solo contendo somatório de índices parciais como sendo -1 e outro com -7 fazendo com que estes recebam a mesma classificação, uma vez que solos com índices parciais próximos, como -8 e -9, são classificados distintamente.

Rodrigues (2010) estudando biocorrosão em cupons metálicos AISI 1020 enterrados em solos, classificou-os segundo Steinrath como de pouca/média agressividade e pouco agressivo.

Nos solos argiloso e arenoso houve uma ausência de íons cloretos. Sabe-se quando há cloreto a agressividade de um ambiente é maior, pois este íon tem a capacidade de se

adsorver em pontos de maior instabilidade nas camadas passivantes que se formam sobre a superfície de metálica, ocasionando a ruptura desta camada e, conseqüentemente, o ataque local do metal (corrosão localizada)(RODRIGUES, 2010).

Ainda pode ser feita uma correlação no que diz respeito à relação entre umidade e resistividade. Com o aumento do teor de umidade é notável a queda do valor de sua resistividade. Maiores percentuais de água favorecem a condutividade elétrica no solo o que conseqüentemente diminui a sua resistividade.

Adotando a classificação de acordo com o índice de Steinrath modificado (BATISTA e MAGALHÃES, 2002), que avalia a corrosividade dos solos substituindo o potencial redox pela concentração das BRS presentes, pode-se obter a avaliação da corrosividade para a concentração das BRS encontradas (Tabela 12).

Tabela 11. Avaliação da agressividade dos solos baseando-se no Índice de Steinrath Modificado.

Parâmetros do solo	Solo Argiloso		Solo Arenoso	
	Valor Medido	Índice parcial	Valor Medido	Índice parcial
Resistividade (ohm.cm)	2000	-2	2500	-2
Umidade (%)	17,4	0	10	0
pH	4,55	-1	6,8	0
Concentração de BRS (NMP/g solo)	1,2x10 ³	-2	Ausência	0
Cloreto (mg/Kg)	Ausência	0	Ausência	0
Sulfeto (mg/Kg)	0,51	-4	0,13	-2
Sulfato (mg/Kg)	0,2	0	0,24	0
Índice Total de agressividade		-9		-4
Classificação do solo	Média agressividade		Pouca agressividade	

Substituindo o potencial redox pelas concentrações de BRS, os índices totais sofreram alterações. Porém, as classificações do solo não foram modificadas, pois no arenoso o valor de -4 possui a mesma classificação de -6. Nesse solo não houve crescimento das BRS. Já para o solo argiloso, foi considerado o valor máximo da concentração para BRS (10^3 NMP/g solo). Com este valor a corrosividade se manteve basicamente com a mesma classificação. Deve-se ressaltar que as concentrações de BRS sofreram alterações durante todo o processo corrosivo. Esta evidência mostra que para essa classificação pode ocorrer alterações, deixando de apresentar media agressividade para apresentar baixa ou alta agressividade. Este critério demonstra que não só a presença, mas também a concentração das BRS é bastante relevante quando se trata de corrosividade do solo (RODRIGUES, 2010).

5.6. Monitoramento da taxa de corrosão dos cupons API 5LX60.

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

As taxas de corrosão com seus respectivos desvios padrões em função do tempo são apresentados na Figura 22. A taxa de corrosão foi determinada ao longo de 100 dias e feita à classificação segundo NACE-RP-07-75.

A Figura 22 mostra os valores encontrados para a taxa de corrosão no período estudado. O solo arenoso apresentou um valor de 0,15 (mm/ano), classificada segundo NACE como moderada enquanto que o solo argiloso a corrosão foi bem mais agressiva atingindo um valor de 0,31 (mm/ano), sendo considerada segundo NACE-RP-07-75 uma corrosão severa.

A taxa de corrosão galvânica (na ausência da população microbiana - branco) atingiu o valor de 0,00083 mm/ano para o solo arenoso e 0,0066 mm/ano para o solo argiloso respectivamente. Concluindo-se, portanto que os micro-organismos contribuíram ativamente no processo corrosivo.

Relacionando os ensaios de perda de massa, segundo a NACE-RP-07-75, com a avaliação da agressividade do solo, de acordo com o Índice de Steinrath, observou-se uma concordância entre as classificações. O solo arenoso foi classificado de acordo com os ensaios de perda de massa como moderado e foi considerado segundo Steinrath um solo com pouca agressividade. O solo argiloso teve uma classificação alta e severa de acordo com a NACE-RP-07-75, e uma média agressividade de acordo com Steinrath.

Outros autores também correlacionaram os ensaios de perda de massa com o Índice de Steinrath, como exemplos podem ser citados Loureiro (2007) e Rodrigues (2010). Rodrigues (2010) em seu trabalho do estudo da biocorrosão de aço-carbono AISI 1020 em solo contendo BRS encontrou uma discrepância entre as classificações do solo. Segundo este índice, solos com baixa e alta concentração de BRS apresentaram avaliação da corrosividade distintas entre eles (pouca e alta corrosividade, respectivamente). Já para os ensaios de perda de massa, ambos foram classificados como solos de corrosividade severa.

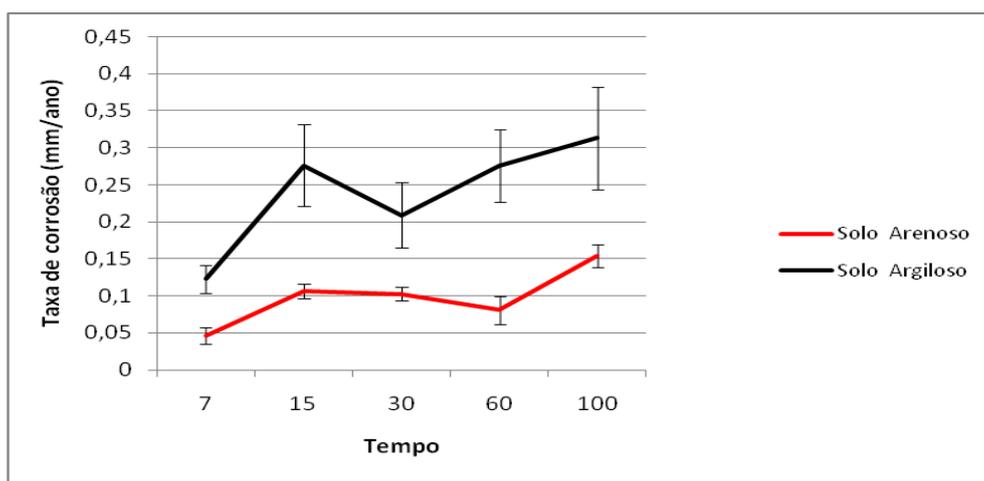


Figura 22. Taxa de corrosão dos solos arenoso e argila.

5.7. Análises de caracterização das superfícies metálicas para o aço carbono API 5LX60.

As análises para a caracterização de superfície foram a microscopia óptica usada para avaliar a formação dos pites, e a microscopia eletrônica de varredura (MEV) para observar a morfologia dos biofilmes.

5.7.1. Avaliação da corrosão por pites

No estudo da biocorrosão, a extensão do processo corrosivo não pode ser determinada somente por ensaios de perda de massa. Quando se trata de corrosão localizada, a perda de massa é pequena, o que pode levar a uma classificação errônea. A perda de massa não dá informação sobre o número nem a profundidade dos pites, tornando-se extremamente importante a análise da superfície metálica para a sua determinação.

Não foi possível visualizar a olho nu nenhum ponto de corrosão localizada nos cupons estudados. Porém, ao observar toda a superfície dos cupons metálicos com auxílio de um microscópio foi possível detectar a presença de um grande número de pites.

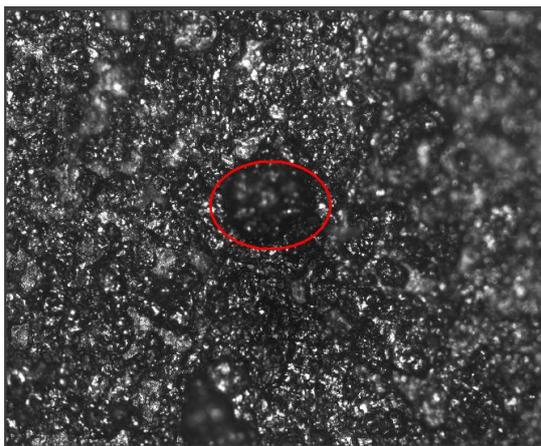
Os cupons do solo argiloso tiveram os seguintes valores:

Total de pites observados	57
Área máxima	0,1845 mm ²
Área média (desvio padrão = 0,053 mm ²)	0,038 mm ²
Densidade	1,035E + 06
Profundidade máxima	0,085 mm
Profundidade média (desvio padrão = 0,007 mm)	0,035 mm

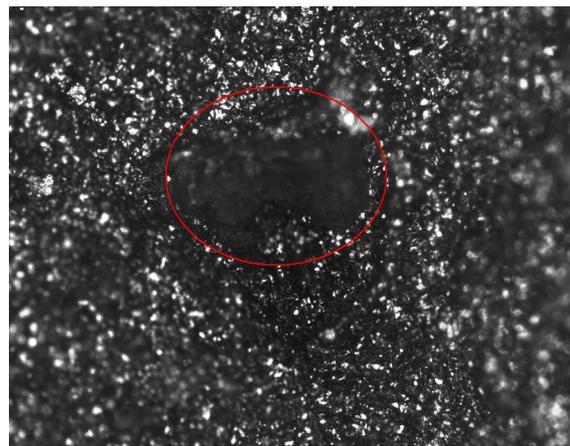
De uma forma geral, os pites apresentaram área e profundidade bem desenvolvida (Figura 23 e 24). A Figura 23 mostra a imagens com os pites encontrados na superfície metálica que estão sinalizados em vermelho, e a imagem em colorido (cor de ferrugem) mostra os produtos de corrosão ao redor do pite.

A corrosão por pites é uma das mais prejudiciais, pois embora afete somente pequenas partes da superfície metálica, pode causar rápida perda de espessura do material metálico originando perfurações e pontos de concentrações de tensões, ocasionando a diminuição de resistência mecânica do material e conseqüentemente possibilidade de fratura (GENTIL, 2007). O aparecimento do pite está relacionado à presença de certos ânions agressivos no meio. O mesmo metal pode mostrar diferentes

potenciais de pite em diferentes ânions, mas em geral, o íon cloreto é o mais agressivo de todos, desde que ele exibe o mais baixo potencial de pite e também por ser um dos mais extensivamente presentes na natureza e as inclusões de sulfeto são responsáveis pelo início do ataque por pite em aço carbono (GALVELE,1990).Em nosso estudo o responsável pelo o aparecimento dos pites foram as inclusões de sulfeto, pois não houve íons cloretos em nosso solo.



(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 23. Imagens com os pites encontrados na superfície metálica do solo argiloso; (a) e (b) Imagens dos pites em solo argiloso; (c) e (d) Imagens dos pites em solo argiloso com formação de produtos da corrosão visualizados em 10 μ m.

A Figura 24 mostra a avaliação por pites do solo arenoso. Os cupons metálicos do solo arenoso apresentaram os seguintes valores:

Total de pites observados	36
Área máxima	0,1045 mm ²
Área média (desvio padrão = 0,038mm ²)	0,0405 mm ²
Densidade	6,4E + 06
Profundidade máxima	0,049 mm
Profundidade média (desvio padrão = 0,007 mm)	0,035 mm

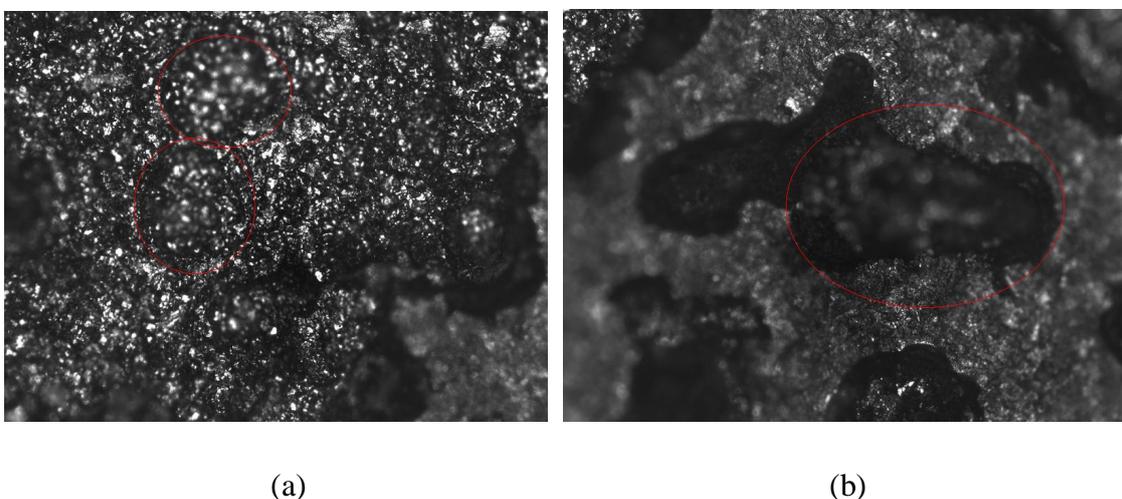


Figura 24. As imagens (a) e (b) mostram os pites formados no solo arenoso, visualizados em 10µm.

Comparando os dois solos, o argiloso apresentou uma maior quantidade de pites nos cupons, a média das profundidades dos pites foi a mesma nos dois tipos de solos, porém a profundidade de alguns pites foi bem maior no solo argiloso que no solo arenoso. O solo arenoso como possuiu pouca agressividade realmente apresentou valores menores que no solo argiloso que teve classificação alta e severa.

A presença das BRS no solo argiloso também favoreceu a corrosão do metal, uma vez que estes micro-organismos sob condições anaeróbias atuam reduzindo o sulfato a H₂S, o que propicia a fragilização pelo hidrogênio e formação do produto de corrosão característico FeS (sulfeto de ferro) (BUENO, 2007). A corrosão de superfícies

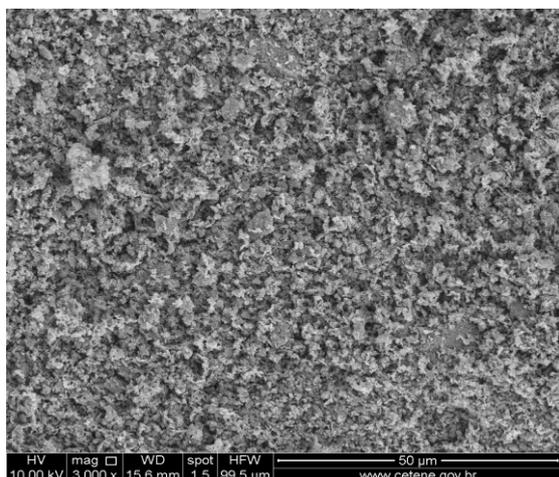
metálicas, por BRS, ocorre abaixo de tubérculos (camadas de produto de corrosão), sob os quais se pode encontrar pites profundos, em função do ataque ao metal pelos sulfetos produzidos durante seu metabolismo (GENTIL, 2007).

Rodrigues (2010) trabalhando com solo inoculado com BRS na concentração de 10^6 (NMP/g solo) encontrou uma profundidade média de 28,36 μm a densidade $1,1 \times 10^6$ (pites/ m^2) semelhante aos resultados encontrados nos nossos experimentos.

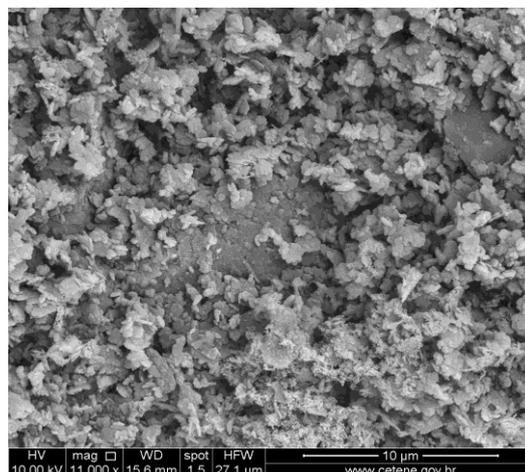
Mesmo em solo sem a presença das BRS, foi possível visualizar os pites nos cupons metálicos oriundos do solo arenoso, a pequena quantidade de íons sulfetos no solo arenoso contribuíram para o surgimento desses pites.

5.7.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

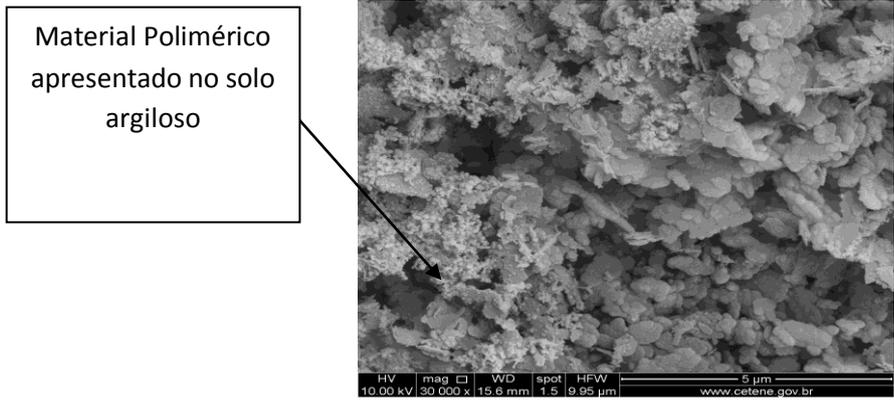
As Figuras 25 e 26 mostram as micrografias dos cupons nos solos argiloso e arenoso. Esses cupons apresentaram uma grande quantidade de material distribuído não uniformemente em toda sua superfície, isto é bem visível nas micrografias (a) e (b) das Figuras 25 e 26. Não foi visualizada a presença de células microbianas, possivelmente devido à grande quantidade de areia e argila aderida à superfície, mas pode-se observar a presença de material polimérico, na superfície de alguns cupons (Figura 25c e 26c).



(a)

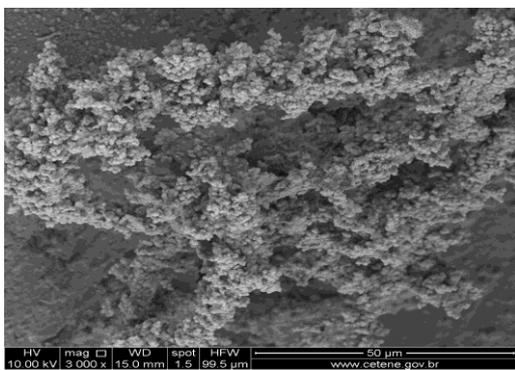


(b)

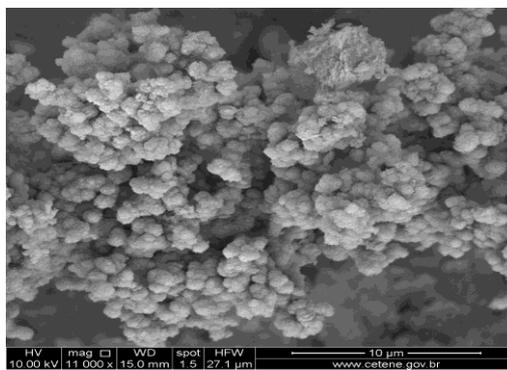


(C)

Figura 25. Microscopias de cupons com biofilme do solo argiloso (a) aumento de 3000x (b) aumento de 11000x (c) aumento de 30000x.

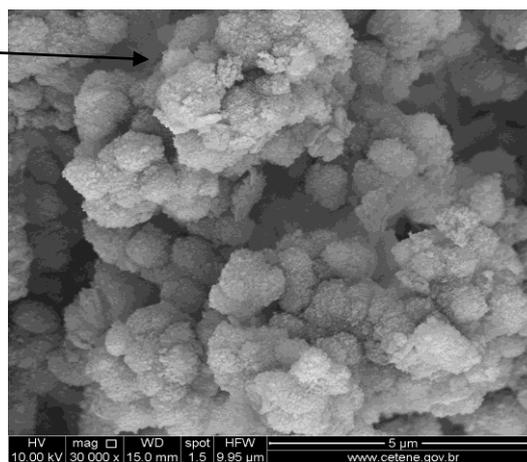


(a)



(b)

Material polimérico apresentados no solo arenoso



(c)

Figura 26. Microscopias de cupons com biofilme do solo argiloso (a) aumento de 3000x (b) aumento de 11000x (c) aumento de 30000x.

5.8. Avaliação de estrutura da diversidade microbiana em amostras de solos com o uso da técnica do PCR/DGGE

5.8.1. Extração do DNA

As amostras de solo utilizadas foram coletadas no início do processo com o solo extraído da área demarcada e ao final do processo de 100 dias quando o solo já se encontrava nos biorreatores. A extração de DNA foi positiva, prosseguindo para a ampliação do DNAr 16S.

5.8.2. PCR16S

Após extração e purificação de DNA das amostras, procedeu-se a etapa de amplificação dos genes DNAr 16S, esta etapa foi verificada por meio de uma eletroforese em gel de agarose a 1,2% diluída em TBE 0,5X. A eletroforese com os produtos da PCR foi feita no mesmo padrão da eletroforese utilizada com os produtos da extração de DNA, foi realizada a 90V durante 1hora.

5.8.3. DGGE

A técnica de Eletroforese em Gel com Gradiente desnaturante (DGGE) possibilitou a separação dos produtos de PCR (as fitas de DNA) de acordo com o teor G+C de suas seqüências de pares de bases, e não considerando os tamanhos dos fragmentos de DNA, como a maioria das técnicas de *fingerprint* genético.

O dendograma da Figura 27 mostra as amostras de solo arenoso e argiloso no começo e final do processo, as siglas AT 1 significa solo arenoso 1 no início do processo, AT 2 solo arenoso no final do processo, AR 1 significa solo argiloso no começo do processo e AR2 significa solo argiloso no final do processo.

As comunidades do solo arenoso (AT) e do solo argiloso (AR) são bem distintas, no dendograma percebe-se que são formados grupos bem separados. E as amostras no final do processo têm uma tendência a selecionar alguns grupos microbianos como é mostrado por algumas bandas que ficaram fortes após os 100 dias que estiveram dentro

do biorreator. Geralmente as bandas visualizadas no gel de DGGE correspondem a uma espécie bacteriana. Entretanto, sabe-se que várias bactérias tem mais de uma cópia do DNAr 16S, que quando amplificadas e analisadas por DGGE podem ter diversas mobilidades, resultando em múltiplas bandas que são de uma mesma espécie bacteriana (NUBEL et al., 1996; BOON, 2000).

Além de identificar a variabilidade genética do consórcio, a técnica de DGGE permite a comparação entre duas ou mais amostras, através da análise dos padrões de bandeamento, evidenciando as modificações na diversidade da comunidade bacteriana (MUYZER et al., 1993; JACKSON, 2000). Nos resultados desse solo o DGGE foi feito para mostrar o quanto a amostra é semelhante ou igual em termos de comunidade microbiana, mas não se pode afirmar qual é o solo mais diverso.

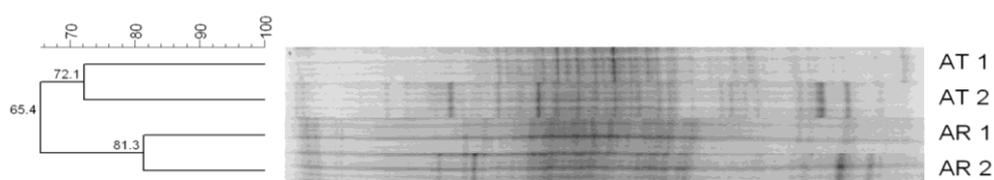


Figura 27. Dendrograma mostrando os solos argilosos e arenosos nos tempos iniciais e finais do experimento.

5.9. Modelos matemáticos para a taxa de corrosão

Em muitos estudos experimentais são utilizados modelos fenomenológicos para melhor compreensão dos fenômenos envolvidos nos processos estudados. Esses modelos baseiam-se na formulação de hipóteses e correlações teóricas ou empíricas para explicar os fenômenos e o comportamento do processo observado experimentalmente (BORZANI et. al., 2001).

Neste estudo foi desenvolvido um modelo matemático para a taxa de corrosão com o tempo de exposição dos cupons no solo argiloso. A Figura 28 mostra o gráfico e as respectivas equações matemáticas para os cupons de aço carbono API 5LX60. Analisando-se a Figura 28 percebe-se o decaimento da taxa de corrosão em função do

tempo de exposição do cupom no solo argiloso no período de 12 dias. Para este caso, o modelo que melhor se ajustou foi a equação de decaimento polinomial de grau 3.

Estudos desenvolvidos por (VIDELA, 2003; VIDELA & HERRERA, 2005) permitiram concluir que a corrosão do aço influenciada pelas BRS é sensivelmente afetada pela natureza e estrutura dos filmes de sulfeto produzidos durante a dissolução do metal. As características ambientais da interface metal-biofilme/ meio e seus arredores (pH, composição iônica, níveis de oxigênio e concentração de EPS) controlam a natureza química e física das camadas de produtos de corrosão e podem mudar os seus efeitos sobre o comportamento do metal de corrosivo para protetor.

Com a análise de óxido de ferro conseguiu quantificar o óxido formado na superfície metálica. A Figura 29 mostra que houve produção de óxido de ferro durante o processo. Nas primeiras 150h houve um aumento crescente de oxido de ferro A máxima concentração de 6,3 ppm.

É provável que a produção de Fe_2O_3 possa gerar uma camada de passivação, protegendo o metal do processo corrosivo. A passivação é um processo que depende do material e do meio corrosivo. Admite-se que a passivação seja causada por um filme muito fino de oxido na superfície metálica, que impede o contato entre o metal e o meio corrosivo (GENTIL, 2007).

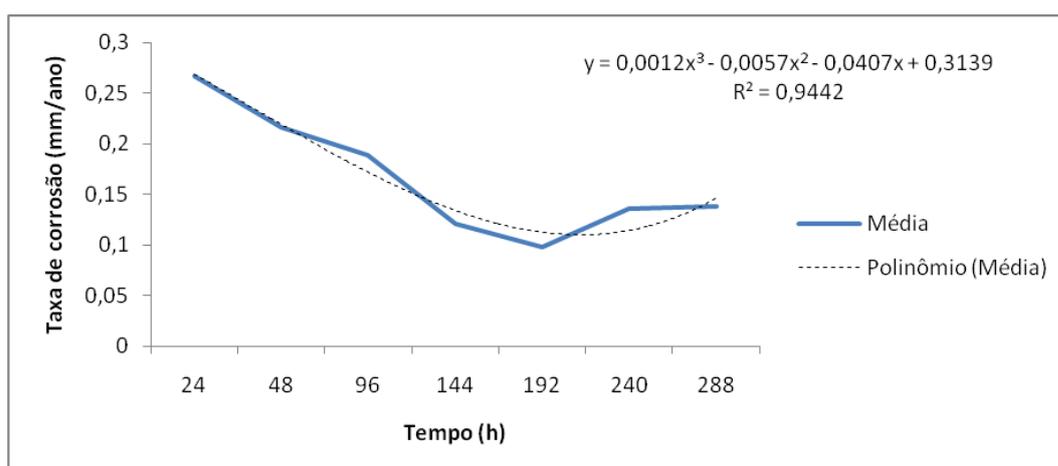


Figura 28. Modelo matemático da taxa de corrosão com o tempo de exposição dos cupons no solo argiloso.

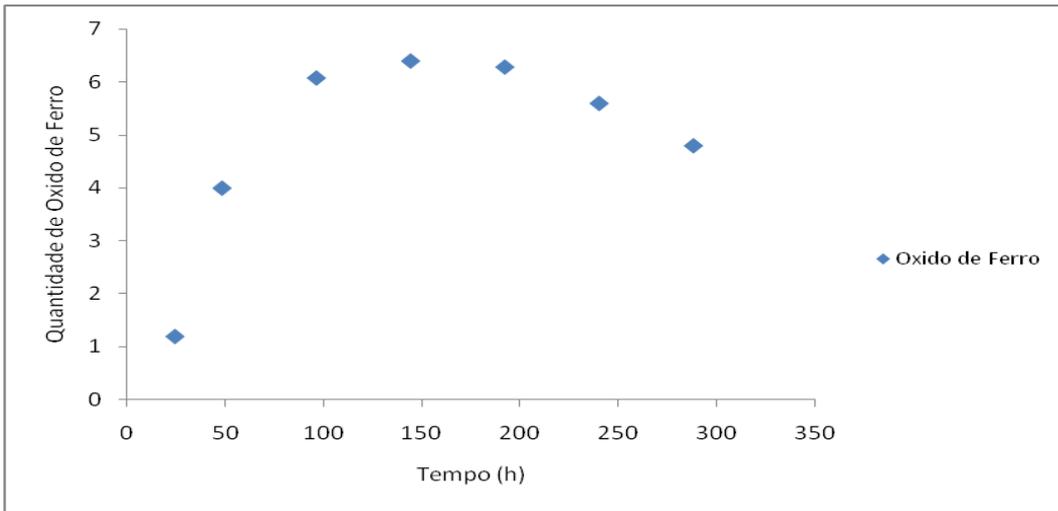


Figura 29. Quantidade de óxido de Ferro contida nos cupons metálicos em função do tempo.

6. CONCLUSÕES

As principais conclusões deste trabalho foram:

- As características físico-químicas dos solos influenciaram na atividade microbiana e na disponibilidade de nutrientes;
- Os solos estudados foram classificados como argiloso e arenoso de acordo com a caracterização geotécnica;
- As características geotécnicas (análises granulométrica e permeabilidade) mostraram que o solo argiloso tem uma maior capacidade de retenção de água do que solo arenoso, influenciando no teor de umidade do solo.
- Foram encontradas no solo argiloso a presença de micro-organismos responsáveis pelo processo de biocorrosão tais como: bactérias heterotróficas aeróbias, bactérias precipitantes de ferro, BRS e bactérias aeróbias produtoras de ácido, anaeróbias e fungos filamentosos;
- No solo arenoso foram encontrados todos os grupos de micro-organismos já citados exceto as bactérias produtoras de ácido e BRS;
- Nos biofilmes formados os micro-organismos que apresentaram maiores concentração celular foram às bactérias heterotróficas aeróbias e bactérias precipitantes de ferro;
- De acordo com os índices de Steinrath e de Steinrath modificado, o solo argiloso foi classificado como de média agressividade enquanto que o arenoso foi classificado como baixa agressividade;
- A microscopia eletrônica de varredura (MEV) sugeriu a formação de material polimérico, mas não foi constatada a presença do micro-organismos;
- A avaliação dos pites mostrou que os cupons colocados no solo argiloso apresentaram uma maior quantidade de pites comparado aos do solo arenoso. Houve a presença de pites mais profundos nos cupons do solo argiloso.
- As avaliações da taxa de corrosão durante os processos através de dados de perda de massa foram alta e severa para o solo argiloso e moderado para o solo arenoso;

- No estudo da formação de biofilme por um período de 12 dias, foi observado que as primeiras 24 horas de exposição dos cupons ao solo foram suficientes para ocorrer à adesão dos micro-organismos que são responsáveis pelo processo de biocorrosão;
- Para os cupons do solo argiloso o modelo matemático que melhor se ajustou para a taxa de corrosão foi a da equação de decaimento polinomial de grau três.
- Constatou-se pela técnica do PCR/DGGE que o solo argiloso tem uma tendência a ter uma maior diversidade microbiana que arenoso.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar a biocorrosão do aço API 5LX60 na presença das bactérias precipitantes de ferro e bactérias redutoras de sulfato;
- Realizar as amostragens do solo em horizontes mais profundos;
- Utilizar outras ligas de aço-carbono para o estudo da biocorrosão em solo na Região de Suape – PE;
- Estudar o emprego de formulações de revestimento nos cupons;
- Estudar o comportamento eletroquímico em superfícies metálicas através de testes de potencial de circuito aberto e de impedância eletroquímica;
- Estudar a biocorrosão em amostras de solo contaminadas por substâncias químicas.
- Avaliar a corrosividade dos solos ao longo dos experimentos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTINI, J.A. de C. Estudo da influencia da corrente alternada na corrosão em dutos metálicos enterrados/ São Caetano do Sul, SP:IMT-CEUN, 2008. 95p.

ALCARDE, J.C.; GUIDOLIN, J.A., LOPES, A.S. Os Adubos e a eficiência das adubações. 2. ed. ANDA, São Paulo. 35p, 1991

APHA – AWWA – WEF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 18 th ed. Washington, D. C.: American Public Health Association , 1992.

BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A. ANDRADE, D.S. & HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solo sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.28, n.4, p. 641-649, 1998.

BAPTISTA, W. & MAGALHÃES, F. C., Critérios para Avaliação da Corrosividade de Solos por Bactérias Redutoras Sulfato, in: XXII Conbrascorr, 2002.

BAPTISTA, W. & OLIVIER, J. H. Avaliação da Corrosividade do Solo e Sistema de Proteção Catódica na Região do Poliduto Olapa. Comunicação interna Petrobrás,1994.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. 3ª ed., Unicamp: Campinas, 2007. 480p.

BARTON, L. L.; TOMEI, F. A. Characteristics and activities of sulfate-reducing bacteria. In:

BARTON, L. L.(Ed.). Sulfate-reducing bacteria. New York: Plenum Press, 1995. cap. 1, p.1-32. (Biotechnology Handbooks, 8).

BEECH, I.B., SUNNER, J.A. *Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals*. Current opinion in Biotechnology. v.15, p.181-186, 2004.

BEECH, I.B., SUNNER, J.A., HIRAOKA, K. *Microbe-surface interactions in biofouling and biocorrosion processes*. International Microbiology, v.8, p.157-168, 2005.

BORZANI W, AQUARONE, E.; ALMEIDA LIMA, U.; SCHIMIDELL, W
Biotecnologia Industrial, v.2. Edgard Blucher LTDA. 2001.

BOGAN, B. W.; LAMB, B. M.; HUSMILLO, G.; LOWE, K.; PATEREK, R. J.;
KILBANE II, J. J. Development of an environmentally benign microbial inhibitor to
control internal pipeline corrosion. Gas Technology Institute, Final Report, 2004.

BRADFORD, S. A., Pratical handbook of Corrosion Control in Soil; 6 ed., Canadá;
2002.

BOON, N.; MARLÉ, C.; TOP, E. M.; VERSTRAETE, W. Comparison of the spatial
homogeneity of physico-chemical parameters and bacterial 16S rRNA genes in
sediment samples from a dumping site for dredging sludge. **Applied Microbiology and
Biotechnology**, v. 53, p. 742-747, 2000.

BUENO, A. H. S. (Avaliação da Suscetibilidade à Corrosão sob Tensão em Contato
com o Solo dos Aços da Classe API X46, X60 e X80), Dissertação para obtenção do
grau de Mestre, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil (2003).

CABRERA, G., GÓMEZ, J. M., CANTERO, D. Kinetic study of ferrous sulphate
oxidation of Acidithiobacillus ferrooxidans in the presence of heavy metal ions.
Enzyme nd Microbial Technology. 36, p. 301-306, 2005.

CACCIATORE, D. A.; MCNEIL, M. A. Principles of soil bioremediation, Biocycle,
v.36, n.10, p.61-64, 1995.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. Planejamentos de experimentos usando o
Statistica. Rio de Janeiro: E-Papers serviços Editoriais, 2003. 260p.

CAMPEBELL, C. D.; WATSON, C. A. (Org.). Sustainable management of soil organic
matter. Wallingford: CAB International, 2001. p. 393-412.

CHANG, P. Characterization of biofilm through an inhibitive kinetic function. Wat.
Res. vol.30 n. 12, p.2831-2834, 1996.

CHOU, H. H., HUANG, J. S., CHEN, W. G., OHARA, R. Competitive reaction kinetics of sulfate-reducing bacteria and methanogenic bacteria in anaerobic filters. *Bioresource Technology*. 99, p. 8061-8067, 2008.

CASTRO, H. F.; WILLIAMS, N. H.; OGRAM, A. Phylogeny of sulfate-reducing bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, v.31, p.1-9, 2000.

CETESB, Norma L5.207. Contagens de Colônias de Bactérias que Precipitam o Ferro (1992). 1-1p.

CHARACKLIS, W.G., MARSHALL, K.C. *Biofilms*. John Wiley & Sons. New York, p.796p, 1990.

CHRISTENSEN B. E.; CHARACKLIS W. G. *Biofilms*. New York: John Wiley & Sons, p. 93-130, 1990.

COETSER, S. E., CLOETE, T. E. *Biofouling and Biocorrosion in Industrial Water Systems*. *Critical Reviews in Microbiology*. v.31, p.213-232, 2005.

COUTINHO, H. L. da C.; OLIVEIRA, V. M. de; MANFIO, G. P.; ROSADO, A. S.1999. Evaluating the microbial diversity of soil samples: Methodological innovations. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, Rio de Janeiro, v.71, 491-503.

CRAVO, W. B. J. *Estudo do efeito de diferentes parâmetros na formação de biofilmes e no processo de biocorrosão*. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2004.

CURY, J. C. Atividade microbiana e diversidades metabólica e genética em solo de mangue contaminado com petróleo. Dissertação. Piracicaba, SP. 84p. 2002.

DANTAS E., 1988. Geração de vapor e água de refrigeração, falhas – tratamentos – limpeza química. Ecolab, Rio de Janeiro.

DANTAS, Livia Almeida Santos. Estudo da biocorrosão em cupons de aço carbono AISI 1005 e SAE 1008 em sistema estático. Dissertação de Mestrado da Universidade federal de Pernambuco. 2009.

Da SILVA, C. R.; De SOUZA Z. M. Eficiência Do Uso De Nutrientes Em Solos Ácidos: Manejo De Nutrientes E Uso Pelas Plantas. São Paulo: 1998 In: faculdade de Engenharia de ilha solteira UNESP.

de BRUIJN, F.J., 1992. Use of repetitive (repetitive extragenic palindromic and enterobacterial repetitive intergenic consensus) sequences and the polymerase chain reaction to fingerprint the genomes of *Rhizobium meliloti* isolates and other soil bacteria. Applied and Environmental Microbiology, 58: 2180-2187.

de FRANÇA, F. P. Notas de aula de Microbiologia aplicada à indústria do petróleo. Pós graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Escola de Química- Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2000.

de NOBREGA, C. A., CHANG, H.K.; A.C. de O. BRAGA, ; J. FERREIRA; OLIVIA, A. PEDE, M.A.Z. Avaliação preliminar da corrosividade de solo com o emprego da resistividade elétrica em uma planta industrial elétrica utilizada para armazenamento de derivados de petróleo. Geociências, UNESP, São Paulo, p. 83-93. - 2003.

DRAGUN, J. The soil chemistry of hazardous Materials. Amherst Scientific Publishers Ed.; Massachusetts, 1998.

EMBRAPA/CEPATSA Zoneamento Agroecológico do Estado de Pernambuco 1996. (no prelo).

EMBRAPA. Manual de Métodos de Análise de Solo. Rio de Janeiro, Centro Nacional de Pesquisa de Solos. - EMBRAPA. 1997. 212 p.

EMPRAPA- Zoneamento Agroecológico do Estado de Pernambuco: Mapa de Reconhecimento de Baixa e Média Intensidade de Solos (Folha Recife SC.25-V-A-III), Recife. 1999.

FERREIRA, S. R. M. Notas de Aula de Pedologia aplicada a Engenharia Civil. Pósgraduação em Engenharia Civil, Área de Geotecnia, Universidade Federal de Pernambuco, 1999.

FERREIRA, L. A., COSTACURTA, R.F., ALBERTI S.M., ZDEBSKY, S.R. Curso de formação de operadores de refinaria: química aplicada - corrosão – Curitiba : PETROBRAS : UnicenP,. 32 p. : il. ; 30 cm. 2002.

FERREIRA, C. A. M. Estudo da corrosão pelo solo – avaliação da corrosividade de amostras de solo do Continente Antártico e da Região Sudeste do Brasil. 2005. 124p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais COPPE/UFRJ) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

FRELEIRA, P.; SANTOS, B. S.; ANTONIO, C.; MORADAS-FERREIRA, P.; LEGALL, J.; XAVIER, A. V.; SANTOS, H. (2003) Response of a strict anaerobe to oxygen: survival strategies in *Desulfovibrio gigas*, *Microbiology*, 149; 153-1522.

GALL, J.L. e XAVIER, A, (1996). Anaerobes response to oxygen: the sulfate-reducing bacteria. *Anaerobe*, v.2, p. 1-9

GALVELE, J.R. *Passivity of metals*. In: FRANKENTHAL, R. P., KRUGER, J. (eds.). New Jersey: The Electrochemical Society, Inc., 1978. p.285-327.

GALVELE, J.R. Pitting corrosion (J.C.Scully, ed.) *Treatise on Materials Science and Technology*, New York: Academic Press., 1983, v. 23, p.1-53.

GENTIL, V. *Corrosão*. Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 4a ed. Rio de Janeiro, Ed. Rio de Janeiro. p.341, 2003.

GENTIL, Vicente. Ciência e engenharia de materiais: uma introdução. 4. ed. Rio de Janeiro: Ltc, 2007. 353 p.

GODOY, J.G.& BÔAS,R.L.V. I SIGRA – Simpósio Sobre Gramados – “Produção, Implantação e Manutenção” Departamento de Recursos Naturais / Ciência do Solo- Faculdade de Ciências Agrônômicas – Unesp, 2003.

GONÇALVES, N. J. Potencialidade do Tratamento por Choque com Biocidas na Remoção e/ou Formação de Biofilmes. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, p.145, 2002.

HU, W.; SHAO, M. A.; WANG, Q. J.; e REICHARDT, K.. Soil water content temporalspatial variability of the surface layer of a Loess Plateau hillside in China. *Sci. agric.*. 2008, vol. 65, no. 3, pp. 277-289.

JACOBS, M. B.; BRAVERMAN, M. M. ;HOICHEISER, S.Ultramicrodetermination of sulfides in air. *Analytical Chemistry*, v. 29, p. 1349-1351, 1957.

JACKSON, C. R.; RODEN, E. E.; CHURCHILL, P. F. Denaturing gradient gel electrophoresis can fail to separate 16S rDNA fragments with multiple base differences. **Molecular Biology Today**, v. 1, p. 49-51, 2000.

JEFREY, R. & MELCHERS, R.E. Bacteriological influence in the development of iron sulphide speceis in marine immersion environments. *Corrosion Science*. v. 45, p. 693-714, 2003.

JOHNSON, M. J.; LEE, K. Y.; SCOW, K. M. DNA fingerprint reveals links among agricultural crops, soil properties, and the composition of soil microbial communities. *Geoderma*, Amsterdam, v. 114, n. 3/4, p. 279-303, 2003.

JUZELIUNAS, E.; RAMANAUSKAS, R.; LUGAUSKAS, A.; LEINARTAS, K.; SAMULEVICIEM, M.; SUDAVICIUS, A.; JUSKENAS, R. *Microbially influenced corrosion of zinc and aluminum – two years of Aspergillus niger*. *Corrosion Scienc*. v.49, n.11, p. 4098-4112, 2007.

KLAR, A.E. A água no sistema solo – planta – atmosfera. São Paulo: Nobel, 1984.

LARSON, W.E.; PIERCE, F.J. The dynamics of soil quality as a measure of sustainable management. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A., eds. *Defining soil quality for a sustainable environment*. Madison, Soil Science Society of America Special Publication Number 35, 1994. p.37-51

LEHMANN, M. & VINATEA, L. Metodologia de amostragem de solo para determinação do potencial redox em viveiros de cultivo de água doce e salgada. *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 34(1): 131 - 140, 2008.

LEU, J. Y.; MCGOVERN TRAA, C. P.; PORTER, A. J. R.; HARRIS, W. J.; HAMILTON W. A. Identification and phylogenetic analysis of thermophilic sulfate-reducing bacteria in oil field samples by 16S rDNA gene cloning and sequencing. *Anaerobe*, v. 4 p. 165-174, 1998.

LIANG, R., Liu, M. Preparation and properties of a double-coated slow-release and water-retention urea fertilizer. *J. Agric food chem.* 54(4): 1392-8. 2006.

LIMA, H. V.; SILVA, A. P.; JACOMINE, P. T. K.; ROMERO, R. E.; LIBARD, P. L. Identificação e Caracterização de solos coesos no estado do ceará. **Revista Brasileira de Ciências do solo**, Ceará, n. 28, p. 467-476, 2004.

LITTLE, B.; STAEHLE, R.; DAVIS, R. *Fungal influenced corrosion of posttensioned cables*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 47, p. 71-77, 2001.

LOPES, Alfredo Scheid (trad. e adapt.). *Manual de fertilidade do solo*: São Paulo: ANDA/POTAFOS, 1989.

LOPES, F. A.; MORIN, P.; OLIVEIRA, R.; MELO, L. F. Interaction of *Desulfovibrio desulfuricans* biofilms with stainless steel surface and its impact on bacterial metabolism. *J Appl Microbiol*, v. 101, p. 1087-1095, 2006.

LOUREIRO, A. M. V. *Estudo da Corrosão de Dutos Enterrados em Solos Contaminados por Substâncias Químicas*. 2005. 122p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

LUTTERBACH, M. T. S., DE FRANÇA, F. P. *Biofilm formation on brass coupons exposed to cooling water*. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. v. 14, n. 1, p. 81-87, 1997B.

MA, H. The influence of hydrogen sulfide on corrosion of iron under different conditions. *Corrosion Science*, v. 42, n. 10, p. 1669-1683, 2000).

MAINIER, F. B., LETA, F. R., O ensino de corrosão e de técnicas anticorrosivas compatíveis com o meio ambiente”. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENSINO DE ENGENHARIA, 29 - COBENGE, 2001. Anais... Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 20 a 21 de Setembro, 2001. CD-ROM.

MAGALHÃES, F. C. M., BAPTISTA, W., PENNA M. DE O., SILVA, E. D. DA , OLIVEIRA, H. B. DE , DA COSTA J. C. M., Critérios Para Avaliação da Corrosividade de Solos por Bactérias Redutoras de Sulfato, 6º COTEQ Conferência sobre Tecnologia de Equipamentos 22º CONBRASCORR – Congresso Brasileiro de Corrosão Salvador – Bahia 19 a 21 de agosto de 2002.

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

MULLIS, K.B. Target amplification for DNA analyses by the polimerase chain reaction. *AnnBiolclin*48(8): 579-82, 1990.

MUYZER, G., De WAAL, E.C., UITTERLINDEN, A.G., 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology* 59:695-700.

MUYZER, G. e SMALLA, K., 1998. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. Mini review. *Antonie van Leeuwenhoek* 73:127-141.

NACE Standard RP0169 - 2002, Control of External Corrosion on Underground or Submerged Metallic Piping Systems, (Houston, TX: NACE, 2002).

NATIONAL ASSOCIATION OF CORROSION ENGINEERS. **NACE-RP-07-75**: preparation, installation, analysis, and interpretation of corrosion coupons in oilfield operations. Houston, 2005. 19 p.

NAGIUB, A. & MANSFELD, F. Evaluation of microbiologically influenced corrosion inhibition (MICI) with EIS and ENA. *Electrochimica Acta*, v. 47, p. 2319-2333, 2002.

NEVEUX, M. La Corrosion des Conduites d'Eau et de Gas – Causes et Remèdes, Éd. Eyrolles, Paris p. 169-170, 1968.

Norma ASTM D 2017 – Obtenção da capacidade de retenção de água no solo.

Norma ASTM G 46/76: Examination and Evaluation of Pitting Corrosion, ASTM – American Society for Testing and Materials, 2005.

Norma Brasileira ABNT NBR-7181. Solo - Análise Granulométrica. Associação de Normas Técnicas, São Paulo, SP, 13 p. 1984.

Norma Brasileira ABNT NBR-7181. Solo – Amostras de solo. Preparação para ensaios de compactação e ensaios de caracterização, Associação Brasileira de Normas Técnicas, São Paulo, SP, 13 p. 1984.

Norma Brasileira ABNT NBR-6508. Massa específica dos grãos dos solos. Associação Brasileira de Normas Técnicas, São Paulo, SP, 13 p. 1984.

Norma Brasileira ABNT NBR-6459. Limite de Liquidez, Associação Brasileira de Normas Técnicas, São Paulo, SP, 13 p. 1984.

Norma Brasileira ABNT NBR-7180. Limite de Plasticidade, Associação Brasileira de Normas Técnicas, São Paulo, SP, 13 p. 1984.

Norma Brasileira ABNT NBR-14545. Ensaio de permeabilidade, Associação Brasileira de Normas Técnicas, São Paulo, SP, 13 p. 1984.

NUBEL, U.; ENGELN, B.; FELSKE, A.; SNAIDR, J.; WIESHUBER, A.; AMANN, R. I.; LUDWIG, W.; BACKHAUS, H. Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNAs in *Paenibacillus polymyxa* detected by temperature gradient gel electrophoresis. **Journal of Bacteriology**, v. 178, n° 19, p. 5636-5643, 1996.

NUNES, L.P. *Fundamentos da Resistência à corrosão*. 1.ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência Ltda, v. 1, p. 330, 2007.

O'DONNELL, A. G.; GÖRES, H. E. 16S rDNA methods in soil microbiology. *Current Opinion in Biotechnology*, Amsterdam, v. 10, n. 3, p. 225-229, 1999.

OLIVEIRA, Fernando Jorge Santos de. *Biorremediação de solo arenoso contaminado por óleo cru* / Fernando Jorge Santos de Oliveira. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2001. xvi, 101 p. il (Dissertação) / UFRJ, EQ, 2001.

OLIVEIRA, Sara Horácio. Estudo da utilização da xantana e hipoclorito de sódio como estratégia para controle da biocorrosão. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) Universidade federal de Pernambuco. 2010. xvi, 118f.

OLIVEIRA, S. H., SANTOS, L. A., LIMA, E. S., JUNIOR, D. R. L., VIEIRA, A. A. S., SILVA FILHO, E. B., VINHAS, G. M., FRANÇA, F. P., FILHO, S. L.U., LIMA, M. A. G. A. Estudo da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* em biofilmes formados em cupons de aço carbono AISI 1010. In: XVII Congresso Brasileiro de Engenharia Química, Recife, 2008.

PALMER, J. D.; Environmental characteristics controlling the soil corrosion of ferrous piping; AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, ASM, Philadelphia, pp. 5-17; 1989.

PALLUD, C., CAPPELLEN, P. V. *Kinetics of microbial sulfate reduction in estuarine sediments*. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 70, p. 1148-1162, 2006.

PANOSSIAN, Z. *Corrosão e Proteção contra Corrosão em Equipamentos e Estruturas Metálicas*. 1.ed. São Paulo: IPT, v. 2, p. 636, 1993.

PENNA, M.O. et al., Sistema dinâmico para avaliação de técnicas de monitoração e controle da CIM. **Boletim Técnico da Petrobrás**, v.45, n.1, p.26-33, 2002.

PIMENTA, G.S. *O que é corrosão - Uma abordagem geral*. Disponível em: <<http://www.abraco.org.br/corros10.htm>>. Acesso em 15 de outubro de 2002.

PIMENTA, G., PÉPE, N. Microbially influenced corrosion associated to AISI 304/316 in water conveying systems, In: Symposium New Trends in Molecular Electrochemistry e XII Meeting of the Portuguese Electrochemical Society, Academia de Ciências, Lisboa, Portugal, 2003.

PINTO, S. PREUSSLER, E. Pavimentação Rodoviária: conceitos fundamentais sobre pavimentos flexíveis. 2 ed Rio de Janeiro: copiarte. 269 p. ISBN 85-902537-1-6. 2002.

PONCIANO, J. A. C., “Adequação de espessura de parede projetada em função de processos de corrosão externa e interna em gasodutos”, In: Rio Oil Gas Expo and Conference 2004, Rio de Janeiro.

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

PRADO, Lauro Jorge. Guia de custos. E-book. Disponível em <<http://www.lauroprado.tripod.com/ezine>>. Acesso em 10/11/2001.

- RAIJ, B. van. Fertilidade do solo e adubação. Piracicaba: Ceres, Potafos, 1991, 343p.
- RAINHA, V. L., FONSECA, I. T. E. *Kinetic studies on the SBR influenced corrosion of steel: A first approach*. Corrosion Science, vol.39, n. 4, p. 807-813, 1997.
- RANJARD, L.; POLY, F.; NAZARET, S. Monitoring complex bacterial communities using culture-independent molecular techniques: application to soil environment. Research in Microbiology, Paris, v. 51, n. 3 , p. 167–177, 2000.
- RECOMENDAÇÃO TÉCNICA GCOI/SCM/95 – Obtenção da curva característica de resistividade em relação à porcentagem de água em solos, 1995.
- RESENDE, M.; CURI, N.; REZENDE, S.B.; CORRÊA, G.F. Pedologia – base para distinção de ambientes. Viçosa: NEPUT, 338p 2002.
- RIVERS. E.S. Soil water retentionas related to particule size in selected sands and loamy sands. Soil Science, v.126 , p 94-100, 1978.
- ROBINSON, W. C., 1993, “Testing Soil for corrosiveness”, Materials Performance, Intermountain Corrosion Service Inc., National Association of Corrosion Engineers Publisher, vol. 32, no4, pp. 56-58.
- RODRIGUES, C. S. P. Perfil da comunidade microbiana e distribuição de nutrientes ao longo do estuário do rio Cachoeira (Ilhéus – Bahia) / Ilhéus, BA: UESC, 2009. xi, 42f.
- RODRIGUES, T C. Efeito do Potencial de Proteção Catódica Sobre a Biocorrosão de Aço-Carbono em Solo Contendo BRS / Tatiana de Campos Rodrigues. – Rio de Janeiro, 2010. xvi, 145 p.; il. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Escola de Química – EQ, 2010.
- ROMERO, M. F. Mechanisms proposal of action of the SRB in jeans loaded with ferrous ions. Revista Técnica de Ingeniería, Vol. 30, Edición Especial, 2007.

ROMERO, M. F.; RINCÓN, O. T.; SANZ, M.; RINCÓN, L. B.; OCANDO, CAMPOS, W.; BRACHO, M. Evaluation of Cathodic Protection in presence of Sulfate Reducing Bacteria mixed cultures” CORROSION/08. Houston, TX: NACE, 2008.

ROSADO, A.S., DUARTE, G.F., SELDIN, L., Van ELSAS, J.D., 1997. Molecular Microbial Ecology: a minireview. Brazilian Journal of Microbiology, 28: 135-147.

ROSADO, A. S. Diversidade e ecologia de micro-organismos do solo. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 7; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2, 2000, Santa Maria. Anais... Santa Maria: UFSM, 2000. CD-ROM..

SASS, H.; CYPIONKA, H e BABENZIEN, H-D. (1997). Vertical distribution of sulfatereducing bactéria at the oxic-anoxic interface in sediments of the oligotrophic Lake Stechlin. FEMS Microbiology Ecology, v.22, p. 245-255.

SAIKI, R K; GELFAND, D H; STOFFEL, S J; SCHARF, S J; HIGUCHI, R; HORN, G T; MULLIS, K B and ERLICH, H A (1988). Primer directed enzymatic amplification of DNA with thermo stable DNA polymerase. Science, 239: 487–491

SANCHEZ, P.A.; SALINAS, J.G. Suelos acidos: estrategias para su manejo con bajos insumos en America Tropical. Bogotá: Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, 1983. 93p.

SERRA, Eduardo T. Corrosão e proteção anticorrosiva dos metais no solo. Rio de Janeiro: Centro de Pesquisas de Energia Elétrica, 2006. 169 p

SERRA, E. T., Corrosão pelo solo: agentes avaliação e soluções, In: Eletricidade Moderna,1982.

SCHNEEGURT,M.A.,Dore, S.Y.,Kulpa, C.F.,Jr.Direct extration of DNA from soils for studies in microbial ecology. Curr Issues mol boil 5(1): 1-8.2003.

SCOTTO, V. Microbial and biochemical factors affecting the corrosion behaviour of stainless steels in seawater. A working party report on marine corrosion of stainless steels: chlorination and microbial effects. n 10, Institute of Materials London, p. 21-33, 1993.

STARKEY, R. L. & WRIGHT, K. M. Anaerobic Corrosion of Irons in Soils. Amer. Gas. Assoc., NY, 1945.

STEINENBERG, R. E.; HOLDEN, P.A. Macromolecular composition of unsaturated *Pseudomonas aeruginosa* biofilms with time and carbon source. *Biofilms*, v.1, p. 37-47, 2004.

SILVA, N.; NETO, R. C; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica da água**. São Paulo: Varela Editora e Livraria Ltda, 2005.164 p.

SMIT, E.; LEEFLANG, P.; GOMMANS, S.; VAN DEN BROEK, J.; VAN, M. S.; WERNARS, K. Diversity and seasonal fluctuations of the dominant members of the bacterial soil community in a wheat field as determined by cultivation and molecular methods. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, n. 5, p. 2284-2291, 2001.

SOUSA, D.M.G.; MIRANDA, L.N.; LOBATO, E. & CASTRO, L.H.R. Métodos para determinar as necessidades de calagem em solos dos cerrados. *R. Bras. Ci. Solo*, 13:193-198, 1989.

SOUZA, B. G. & OLIVIER, J. H. L. Circumferential SCC in Pipeline Due to Land Creeping”. In: 4th International Pipeline Conference, pp.1-9, Canadá, Sep-OUT. 2002.

SOUZA, E.D.; CARNEIRO, M.A.C.; PAULINO, H.B.; SILVA, C.A. & BUZET T I, S. Frações do carbono orgânico, biomassa e atividade microbiana em um Latossolo Vermelho sob cerrado submetido a diferentes sistemas de manejos e usos do solo. *Acta Sci. Agron.*, 28:323-329, 2006.

TABBAGH, et al., *Geoderma*, 97, 393 (2000)

TIEDJE, J. M.; CHO, J. C.; MURRAY, A.; TREVES, D.; XIA, B.; AHO, J. Soil teeming with life: new frontiers for soil science. In: REES, R. M.; BALL, B. C.;

TURGEON, Educational resources for turfgrass science Disponível em: <http://turfgrass.cas.psu.edu/> (acesso em 23/08/2002 às 2:35)

TILLER, A.K. "Aspects of Microbial Corrosion", in parkins, R.N., Corrosion Process Applied Science Publishers, London, 1982, pp 120-121.

TIMM, L. C.; PIRES, L.F.; ROVERATTI, R.; ARTHUR, R.C.J.; REICHARDT, K.; OLIVEIRA, J.C.M.; BACCHI, O.O.S. Field spatial and temporal patterns of soil water content and bulk density changes. Sci. agric. 2006, vol. 63, no. 1, pp. 55-64.

TORRES, E.S. Cinética de parâmetros microbiológicos na formação de biofilmes. Dissertação de mestrado – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2001.

TORRES, E. S. *Potencialidade de pigs na remoção de biofilmes formados em dutos*. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, 2005.

TRABANELLI, G.; ZUCCHI, F.; ARPAIA, M. Methods of Determination of Soil Corrosiveness With Respect to Metallic Structures", *Chinica Pura ed Applicata*, v. III, n. 4, p. 43-59, 1972.

TRINDADE, P. V. O. Avaliação das Técnicas de bioaumentação e bioestimulação no processo de biorremediação de solo contaminado por hidrocarbonetos de petróleo, 127p, 2002. Tese M. Sc., Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, Brasil, 2002.

VERSALOVIC, J., KOEUTH, T., and LUPSKI, J.R., 1991. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Research* 19: 6823-6831

VIDELA, H. A. *Biocorrosão, biofouling e biodeterioração de materiais*. 1a. ed. SãoPaulo: Ed. Edgard Blucher Ltda, 148p, 2003.

VIDELA, H. A., HERRERA, L. K. Microbiologically influenced corrosion: looking to the future. *International Microbiology*, v.8, p.169-180, 2005.

VIANA, M.G. Avaliação de produtos naturais sobre biofilmes formados em sistemas dinâmicos. 2009. 72f. Dissertação (Dissertação de Mestrado em Ciência e Engenharia do Petróleo) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

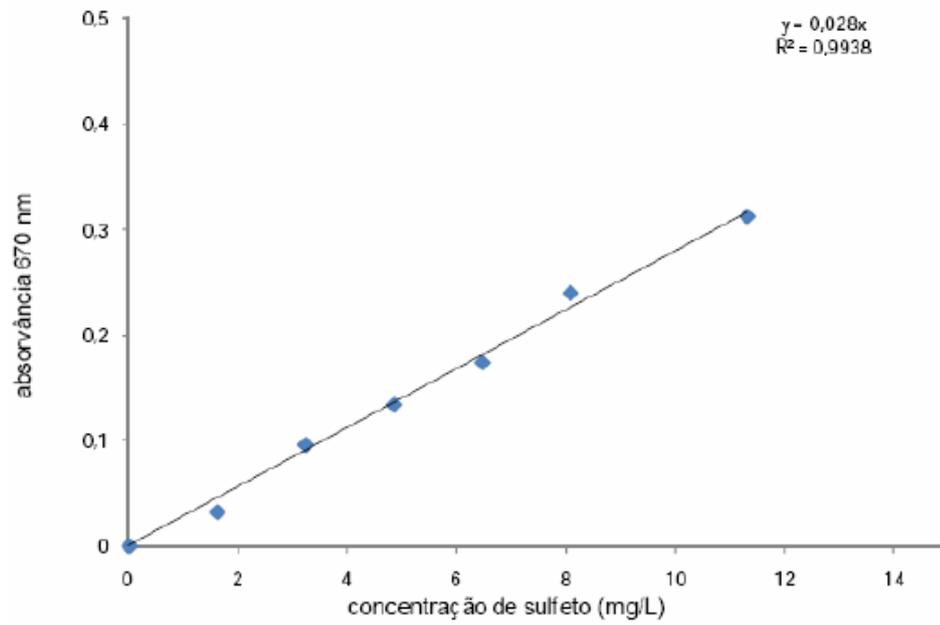
VOGEL, A. (Química Analítica Quantitativa), 5. ed., Mestre Jou, São Paulo, Brasil (1981).

XAVIER, J. B., PICIOREANU, C., ALMEIDA, J. S., LOOSDRECHT, M. C. M. *Monitorização e modelação da estrutura de biofilmes*. Revista Boletim de Biotecnologia, n.76, 2003.

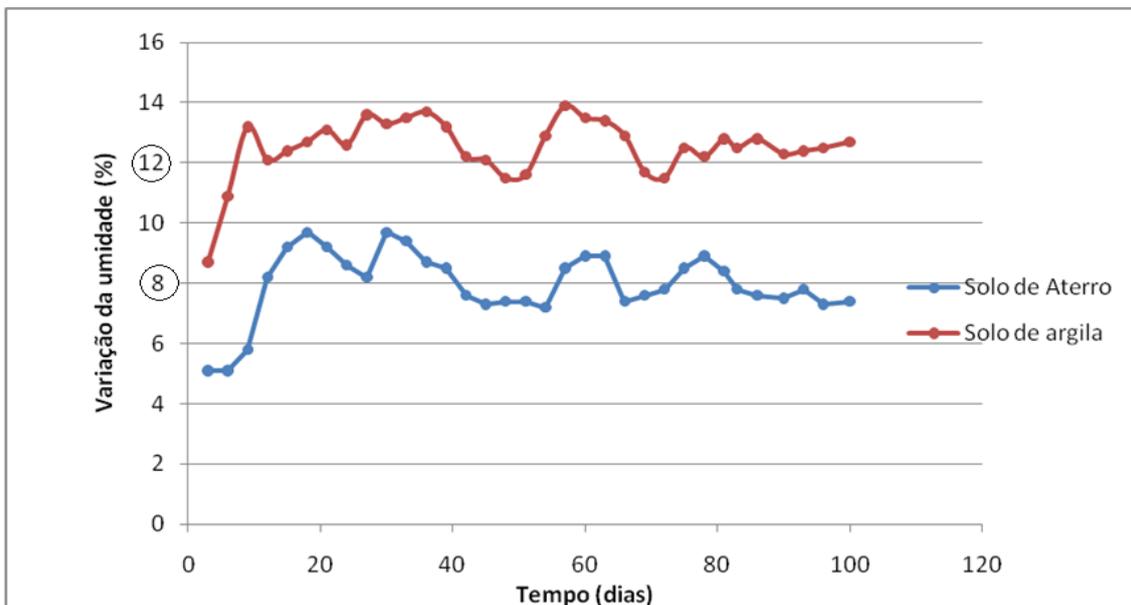
WARSCHEID, T. H., BRAAMS, J. *Biodeterioration of stone: a review*. International Biodeterioration & Biodegradation. v.46, p.343-368, 2000.

ANEXO I

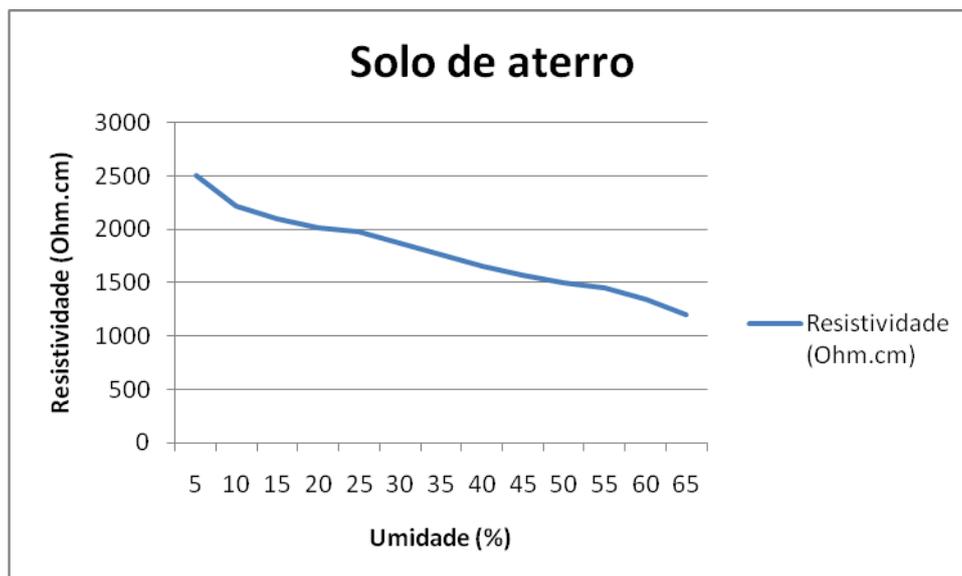
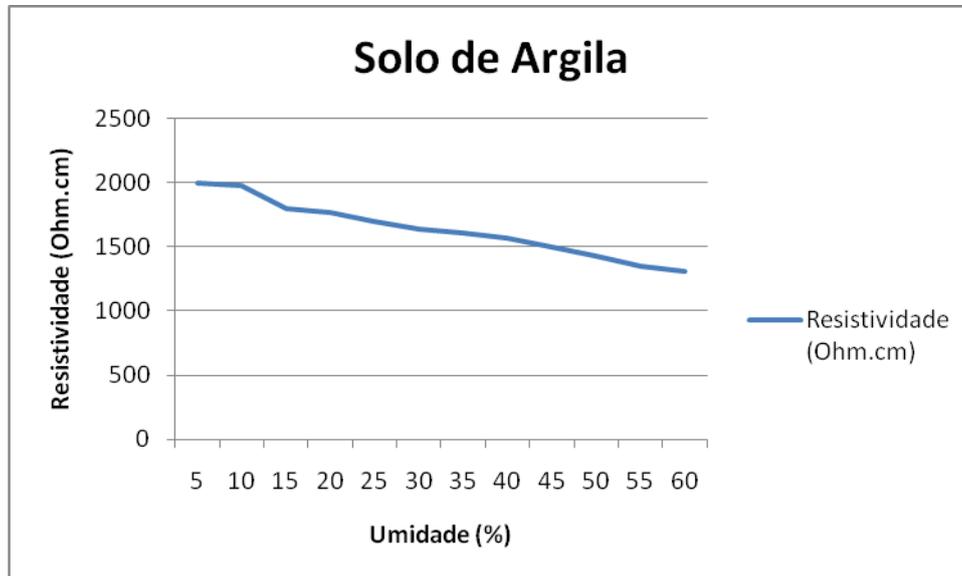
Curva Padrão de Sulfeto.



Variação da Umidade em todo o processo.



Gráficos da Resistividade



Tampões e Soluções

Tampão TBE 1X

Tris	89 mM
EDTA	2,5 mM
H3BO3	89 mM

Corante para eletroforese em agarose

Glicerol	50%
EDTA, pH 7,5	20 mM
Azul de bromofenol	0,05%
Xilenocianol	0,05%

Acrilamida/Bisacrilamida 40%

Acrilamida	38,93 g
Bisacrilamida	1,07 g

Tampão TAE 50x

Trisma Base (Sigma)	2 M
Ácido acético glacial	1 M
EDTA 0,5M pH 8,0	50 mM

Solução desnaturante a 0%

Acrilamida/Bisacrilamida 40%	15 ml
Tampão TAE 50x	2 ml
Água bidestilada	83 ml

Solução desnaturante a 70%

Acrilamida/Bisacrilamida 40%	15 ml
Tampão TAE 50x	2 ml
Formamida deionizada	28 ml
Uréia	29,4 g
Água bidestilada	q.s.p. 100 ml

Solução tampão para corrida de DGGE

Glicerol	70%
Azul de bromofenol	0,05%
Xilenocianol	0,05%
Água Milli-Q.	q.s.p. 100 ml

Solução corante de gradiente de DGGE

Azul de bromofenol	0,05%
Xilenocianol	0,05%
Tampão TAE 50x	2 ml

Água Milli-Q.

q.s.p. 100 ml

Solução de formamida deionizada

Resina AG501-X8 (Bio-Rad)

5 g

Formamida
