

**MONITORAMENTO DA FORMAÇÃO DE BIOFILME EM TORRE DE
REFRIGERAÇÃO**

Maria Aparecida Nóbrega de Almeida
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA BIOQUÍMICA, ESCOLA DE
QUÍMICA/UFRJ, CENTRO DE TECNOLOGIA, BLOCO E, ILHA DO
FUNDÃO, mana@eq.ufrj.br**

Eliana Flávia Camporese Sérvulo
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA BIOQUÍMICA, ESCOLA DE
QUÍMICA/UFRJ, CENTRO DE TECNOLOGIA, BLOCO E, ILHA DO
FUNDÃO, servulo@eq.ufrj.br**

Francisca Pessôa de França
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA BIOQUÍMICA, ESCOLA DE
QUÍMICA/UFRJ, CENTRO DE TECNOLOGIA, BLOCO E, ILHA DO
FUNDÃO, fpfranca@eq.ufrj.br**

**6° COTEQ Conferência sobre Tecnologia de Equipamentos
22° CONBRASCORR – Congresso Brasileiro de Corrosão
Salvador – Bahia
19 a 21 de agosto de 2002**

As informações e opiniões contidas neste trabalho são de exclusiva responsabilidade do(s) autor(es)

SINOPSE

A colonização bacteriana de cupons de latão (70% Cu e 30% Zn) e de aço carbono AISI 1020 foi avaliada após 60 dias de exposição à água de um sistema de resfriamento de refinaria. Foram quantificadas bactérias aeróbias, anaeróbias e redutoras de sulfato (BRS) tanto na fase sésil quanto na fase planctônica. A predominância de bactérias aeróbias foi observada em ambas as fases. Nos biofilmes formados sobre latão e aço carbono foram detectadas $1,0 \times 10^5$ cels/cm² e $3,7 \times 10^6$ cels/cm², respectivamente. As bactérias anaeróbias sésseis também estiveram presentes em maior número no aço carbono. Entretanto, as BRS só foram detectadas na fase planctônica. A taxa de corrosão para o aço carbono de 14,7 *mpy* foi 4 vezes maior do que a observada para o latão.

Palavras Chaves: latão; aço carbono; biofilme; torre de refrigeração.

1-INTRODUÇÃO

O avanço da tecnologia mundial tem gerado uma demanda crescente de metais dos mais variados tipos. No ambiente, esses materiais estão sujeitos à deterioração, a qual, com grande frequência é influenciada pela atividade microbiana. A participação dos microrganismos nos mais diferenciados casos de corrosão tem estimulado o interesse pelo entendimento do seu papel neste processo.

Os microrganismos tendem a aderir a superfícies onde encontra maior disponibilidade de nutrientes e ali se desenvolvem formando biofilmes. Como resultado ocorrem alterações das condições eletroquímicas na interface metal/solução, ocasionando a aceleração ou intensificação do processo corrosivo (1).

Por sua vez, os materiais metálicos apresentam diferentes resistências à colonização microbiana. Por exemplo, as ligas de cobre como o latão, são relativamente tóxicas aos microrganismos devido à presença do íon cúprico. No entanto, o caráter aniônico de muitos polissacarídeos, presentes nos biofilmes, propicia o aprisionamento deste e de outros cátions, diminuindo sua concentração naquele ecossistema, assim reduzindo sua ação tóxica (2). Desse modo, torna-se possível uma colonização mais extensa da superfície metálica. Para o aço carbono, verifica-se uma interação entre as camadas passivas que se formam na superfície metálica e o biofilme. A dissolução dessas camadas, pela ação dos microrganismos presentes no biofilme, pode expor o metal aos produtos agressivos resultantes da atividade dos microrganismos, em especial das bactérias redutoras de sulfato (3 e 4).

Com base nesses conhecimentos, este trabalho teve como objetivo avaliar a formação de biofilme em dois metais, aço carbono AISI 1020 e latão, após 60 dias de exposição à água de uma torre de resfriamento.

2- MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados em um sistema de resfriamento de uma refinaria de petróleo, que opera com água doce clarificada com sulfato de alumínio e submetida a cloração. Essa água sofre adições periódicas de inibidores para controlar o processo corrosivo e o controle microbiológico é feito mantendo-se a concentração residual de Cl_2 livre de 0,4 a 0,6 ppm. Eventualmente, biocida (isotiazolona) é também utilizado.

Cupons de aço carbono AISI-1020 e latão (Cu/Zn 70/30) (área média $1,80 \text{ cm}^2$) foram colocados em “by-passes” instalados na saída da bacia de água fria da torre de

resfriamento. A velocidade da água nos dutos foi em média 0,3 m/seg e, durante o período experimental, a temperatura e pH variaram de 22 a 30°C e de 6,9 a 7,6, respectivamente. A análise físico-química da água no ponto monitorado feita de acordo com APHA (5), mostrou a seguinte composição em ppm: Sólidos totais 600; Sólidos voláteis 450; Alcalinidade (HCO_3) 105; Sulfato >1.3; Sílica (SiO_2) 12;00 Cloreto 31; Ferro total 22; Ferro ferroso 7.3; Fosfato 16.2; Zinco 1.4

Periodicamente, amostras de água foram coletadas para determinação das bactérias planctônicas. Para determinação das bactérias sésseis, os cupons foram retirados com 60 dias de exposição. Os biofilmes foram removidos dos cupons como descrito por Cook e Gaylarde (6). As bactérias aeróbias foram quantificadas por contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) em placas de Petri contendo agar nutriente (Merck No 5443, Germany), após incubação a $28 \pm 1^\circ\text{C}$ por 72h. As bactérias anaeróbias e redutoras de sulfato (BRS) foram quantificadas pela técnica do número mais provável (NMP) tendo sido usados, respectivamente, os meios fluido ao tioglicolato (Merck No 8191, Germany) e Postgate E (7), ambos desaerados com N_2 , distribuídos em frascos fechados com rolhas de borracha e cintas metálicas, de modo a garantir condição de anaerobiose. A incubação foi a temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$ por 28 dias. O conteúdo de sulfeto total foi determinado colorimetricamente, segundo técnica recomendada por APHA (8), após tratamento das amostras com HCl concentrado para solubilização dos sulfetos insolúveis. Para determinação da perda de peso, os cupons foram limpos com solução de Clark, rinsados com água destilada, desidratados com acetona e então secos à 80°C até peso constante (9).

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mostram um elevado número de bactérias, tanto aeróbias quanto anaeróbias, na fase planctônica (Tabela 1). A presença de bactérias aeróbias, consideradas por Characklis (10), colonizadoras primárias de superfícies sólidas, favorece a formação de biofilmes. Um elevado número dessas bactérias na fase aquosa aumenta a probabilidade de ocorrer contato com a superfície, possibilitando assim a sua colonização. Além disso, esses microrganismos uma vez aderidos produzem exopolissacarídeos (EPS) cujo acúmulo favorece a adesão de outros microrganismos contribuindo, desse modo, para o desenvolvimento do biofilme.

O número expressivo de bactérias anaeróbias planctônicas detectadas mostra que essas bactérias eram tolerantes ao oxigênio uma vez que o ponto monitorado foi a saída da bacia de água fria. Esta água é oxigenada durante o processo de resfriamento na torre.

As bactérias redutoras de sulfato (BRS), um grupo específico de bactérias anaeróbias, foram detectadas em menor número. Essas bactérias são capazes de sobreviver em

condição de aerobiose, permanecendo em estado latente por tempo prolongado. A partir do momento que há redução da tensão de oxigênio, as BRS voltam a proliferar (11 e 12). No biofilme, os produtos do seu metabolismo contribuem intensamente para o desenvolvimento do processo de corrosão.

A análise dos cupons de aço carbono e latão após 60 dias de exposição à água de resfriamento mostrou que ambos os metais foram colonizados (Tabela 2). Contudo houve diferenciação na quantidade dessas populações nos biofilmes e, sobretudo da taxa de corrosão, dependendo do metal colonizado.

No aço carbono, tanto o número de bactérias aeróbias quanto de bactérias anaeróbias foi uma ordem de grandeza superior ao detectado no latão. Entretanto, observou-se que o número de bactérias aeróbias foi um pouco superior ao das bactérias anaeróbias, correspondendo a cerca de 56 % do total das bactérias quantificadas. No latão este percentual foi equivalente.

O maior número de bactérias detectado no aço carbono deve-se provavelmente ao fato de que este material quando, exposto à água, sofre rapidamente ataque corrosivo e é facilmente colonizado. O latão, uma liga Cu/Zn (70/30) apresenta maior resistência ao ataque corrosivo e à colonização bacteriana. A dissociação desse metal, quando em presença de água, libera íons Cu^{+2} , e o acúmulo desses íons na superfície metálica dificulta a sua colonização. Segundo Trevors e Cotter (13), o desenvolvimento do biofilme em ligas de cobre é favorecido pela produção de exopolímeros por microrganismos já aderidos. A presença de grupos acídicos nessas macromoléculas interagem com os íons metálicos, reduzindo a toxicidade do microambiente, permitindo o crescimento microbiano.

As bactérias redutoras de sulfato não foram detectadas nos biofilmes formados sobre os os dois metais, apesar de sua presença na fase planctônica. Provavelmente a baixa concentração dessas bactérias nessa fase não favoreceu sua implantação na superfície dos metais. Conseqüentemente, o sulfeto detectado nos biofilmes pode ter surgido em conseqüência de reações químicas de compostos contendo enxofre ou seus derivados ou da contaminação com produtos da própria refinaria, e não do metabolismo dessas bactérias.

Lutterbach e de França (14) estudando a colonização do latão em sistema de resfriamento industrial com circulação de água do mar detectaram predominância de bactérias anaeróbias. Com 60 dias de exposição, o percentual de bactérias anaeróbias, inclusive BRS, correspondeu a cerca de 79 % do total de bactérias quantificadas. Comparando com os nossos resultados é possível demonstrar a influência da água empregada no tipo de biofilme formado.

A taxa de corrosão para o aço carbono (14,7 mpy) foi bem mais expressiva do que para o latão (3,5 mpy). Provavelmente devido a natureza do próprio aço carbono, que tende a sofrer corrosão mais facilmente.

4- CONCLUSÃO

Os resultados mostram que a determinação da concentração microbiana na água não é suficiente para antecipar a provável extensão do biofilme a ser formado em sistemas que a utilizam. A colonização e a corrosão microbiologicamente induzida estão relacionadas também a fatores hidrodinâmicos e, principalmente, com o metal utilizado.

5- AGRADECIMENTOS

Ao Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro e à Petrobrás/Reduc pelo uso do sistema industrial.

6- BIBLIOGRAFIA

1-Natishan P. M., Jones-Meehan J., Joeb G. I., Little B. J., Ray R. e Beard M., "Corrosion behavior of some transition metals and 4340 steel metals exposed to sulphate-reducing bacteria.", Corrosion v 55 no 1 1062-1068, 1999.

2- Christensen B. E. e Characklis W. G., "Biofilms", New York, John Wiley & Sons, 1990, pág. 93-130.

3- Silva R. A. e Videla H. A., "A corrosão microbiológica e sua relação com a presença de biofilmes em metais e ligas de uso industrial", 3^o Congresso Ibero/Americano de Corrosão/EXPOCOR, 1989.

4- Videla H. A. e Characklis W. G., "Biofouling and microbially influenced corrosion", International Biodeterioration & Biodegradation, 29 195-215, 1992.

5- American Public Health Association (APHA) "Standard Methods for Examination of Water and Wastewater" 18th ed. , Washington DC, 1992.

6- Cook P. E. e Gaylarde C. C., "Biofilms formation in aqueous metalworking fluids", *International Biodeterioration*, 24 265-270, 1988.

7- Postgate J. R., "The sulphate reducing bacteria", Cambridge. Cambridge University Press, 1984.

8- American Public Health Association (APHA) "Tentative method of analysis for hydrogen sulphide content of the atmosphere" In: *Methods of Air Sampling and Analysis* pág. 426-432, Washington, 1972.

9- ASTM Standard G 1-90, "Standard practice for preparing, cleaning and evaluating corrosion test specimen", Philadelphia PA, ASTM, 1990.

10- Characklis W. G., Marshal K. C. e McFeters G. A., "Biofilms", New York, John Wiley & Sons, 1990, pág.131-159.

11- Pintado J. L. e Montero F., "Corrosión Microbiológica em Centrais Hidroelétricas", *Revista Iberoamericana Corrosion Y Protection* 17 361-366, 1986.

12- Marschall C., Frenzel P. e Cypionka H., "Influence of oxygen on sulfate reduction and growth of sulfate-reducing bacteria", *Archives Microbiology* 159 168-173, 1993.

13- Trevors J. T. e Cotter C. M., "Copper toxicity against Legionella and Pseudomonas", *International Biodeterioration* 26 139-148, 1990.

14- Lutterbach M. T. S. e de França F. P., "Biofilm formation on brass coupons exposed to cooling water", *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 14 81-87, 1997.

Tabela 1 – Microrganismos planctônicos e teor de sulfeto na água de resfriamento

Bactérias aeróbias (ufc/mL)	$2,3 \pm 0,2 \times 10^6$
Bactérias anaeróbias (cel/mL)	$3,3 \pm 0,3 \times 10^5$
Bactérias redutoras de sulfato (cel/mL)	$3,4 \pm 0,3 \times 10^2$
Sulfeto ($\mu\text{g/mL}$)	45

Tabela 2 – Microrganismos sésseis e teor de sulfeto nos biofilmes

	Latão	Aço Carbono
Bactérias aeróbias (ufc/cm ²)	$1,0 \pm 0,1 \times 10^5$	$3,7 \times 10^6$
Bactérias anaeróbias (cel/cm ²)	$7,1 \pm 0,7 \times 10^4$	$1,3 \times 10^5$
Bactérias redutoras de sulfato (cel/cm ²)	ND	ND
Sulfeto ($\mu\text{g/mL}$)	$2,1 \pm 0,2 \times 10^2$	11,0