



**XX SNPTEE
SEMINÁRIO NACIONAL
DE PRODUÇÃO E
TRANSMISSÃO DE
ENERGIA ELÉTRICA**

Versão 1.0
XXX.YY
22 a 25 Novembro de 2009
Recife - PE

GRUPO – I

GRUPO DE ESTUDO DE GERAÇÃO HIDRÁULICA - GGH

**MANUTENÇÃO DE USINAS HIDROELÉTRICAS: A INFLUÊNCIA DE MICRORGANISMOS
FORMADORES DE BIOFILMES E DE CORROSÃO MICROBIOLÓGICA**

Carlos Mario Garcia(*)
LACTEC/DPTM

Marcos A. C. Berton
LACTEC/DPTM

Paulo R. D. Marangoni
LACTEC/DPTM

Diogo Robl
UFPR/Pat. Básica

Ida C. Pimentel
UFPR/Pat. Básica

Patricia Dalzoto
UFPR/Pat. Básica

Vânia Vicente
UFPR/Pat. Básica

RESUMO

Neste trabalho foi estudada a corrosividade das águas na usina hidroelétrica de Salto Pilão, rio Itajaí-açu, Santa Catarina. Foram realizados estudos microbiológicos de formação de biofilmes, velocidade de corrosão metálica e sobre existência de mexilhão dourado na bacia do rio Itajaí-açu com resultado negativo. No entanto, foi detectada a presença de microrganismos que originam corrosão de tipo microbiológica nas águas do rio. Devido a este resultado, recomendou-se a proteção anticorrosiva por tintas de todas as superfícies metálicas em contacto com a água do rio possíveis de serem aplicadas tintas e para o sistema de resfriamento o uso de biocidas.

PALAVRAS-CHAVE

Corrosão microbiológica, corrosão em centrais hidroelétricas, biofilmes, biocorrosão.

1.0 - INTRODUÇÃO

A colonização microbiológica de metais e ligas em contato com águas dos reservatórios de usina hidroelétricas ocorre pela formação de biofilmes nos quais existem bactérias, substâncias poliméricas extracelulares e principalmente água. Estes depósitos biológicos podem modificar drasticamente o comportamento dos metais quanto a sua corrosão. É aceito que os exopolímeros de origem microbiana são de muita importância no processo de união das células às superfícies metálicas. Uma das propriedades importantes dos exopolímeros é sua capacidade de formar complexos dos íons metálicos, dissolvendo assim as camadas de óxidos de passivação formadas (1, 2). Estes processos ocorrem normalmente nas águas naturais. Estes biofilmes devem ser entendidos como consórcios de microrganismos (3). Além das espécies microscópicas, tem se desenvolvido nos últimos anos algumas espécies não originárias, como é o caso do mexilhão dourado e algumas espécies de hidrozoários presentes principalmente nas regiões sul e sudeste do Brasil. Estas espécies, embora ainda não tenha sido demonstrado que originam corrosão, causam entupimento nos sistemas de refrigeração e paradas de unidades geradoras não programadas. Este tipo de inconveniente não foi estudado neste trabalho, mas sim foi analisada a presença, por técnicas de marcadores genéticos, de mexilhão dourado. Este trabalho foi desenvolvido durante a etapa de construção da usina hidroelétrica de Salto Pilão sobre o rio Itajaí-açu, estado de Santa Catarina. Foram analisados três aspectos: estudos microbiológicos de formação de biofilmes sobre metais, velocidade de corrosão dos metais nas condições das águas do rio Itajaí-açu, e estudos sobre existência de mexilhão dourado. Para a parte experimental foram instaladas estações de testes no local com circulação contínua da água do rio, a montante da barragem e a jusante, na região próxima ao canal de fuga. Deve-se destacar que no trajeto do rio entre a barragem e o canal de fuga, mais de 10 km, o rio recebe as águas de outro rio, o rio Ercílio, que pouco

antes atravessa a cidade de Ibirama, pelo qual foi decido também estudar o comportamento dos materiais nas proximidades do canal de fuga.

2.0 - DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL

Para os estudos de crescimento de biofilmes e os efeitos produzidos sobre os metais, foram instaladas quatro estações de corrosão, duas a montante e duas a jusante, estas últimas próximas ao canal de fuga. Deve-se destacar que no trajeto do rio Itajaí-açu entre a barragem e o canal de fuga, mais de 10 km, o rio recebe as águas de outro rio, o rio Ercílio, o qual pouco antes da junção atravessa a cidade de Ibirama – SC. Cada grupo de duas estações de corrosão foi montado no mesmo local físico, cada um com uma bomba que fazia circular água, captando-a uma delas nas proximidades da superfície (aproximadamente 50 cm de profundidade) e a outra nas proximidades do leito (50 a 100 cm acima dele). Esta água circulava por caixas de acrílico de 25 x 25 x 110 cm, colocadas em forma vertical e com sistema de fixação dos corpos-de-prova (CP's) dos materiais a estudar com tampas de saída de caixas de água de uso na construção civil.

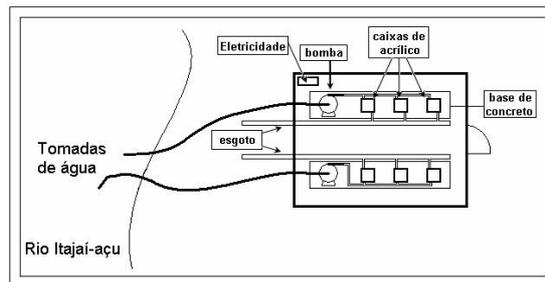


FIGURA 1 – Esquema das estações de corrosão. Cada estrutura, a montante e a jusante, contém duas estações de corrosão em grupos de três caixas de acrílico alinhadas.

Foram utilizados corpos-de-prova (CP's) de diferentes materiais e se confeccionaram de duas formas diferentes: de forma cilíndrica (altura 10 mm, diâmetro 12,5 mm) e de forma plana (20 x 2 x 100 mm). Os metais estavam conectados com um vareta rosqueada com saída para o exterior e por onde se realizavam as conexões para as medidas elétricas. Nos CP's planos, a região da conexão do metal e da vareta foi embutida em resina epoxi, de forma que somente o metal de interesse estava exposto à corrosão. Para os CP's cilíndricos somente ficava exposta a base plana do cilindro. Os CP's de forma plana foram utilizados para os estudos microbiológicos e de observação visual e metalográfica da corrosão. Os de forma cilíndrica foram utilizados para medidas de velocidade de corrosão em função do tempo de imersão com circulação contínua da água do rio. Os materiais em estudo estavam assim em situação semelhante aquela em que ficarão as estruturas e equipamentos da própria usina. Cada CP foi lixado com lixa granulometria 600, desengraxado, as suas duas faces fotografadas e guardado em lugar seco até a sua instalação. Os metais estudados e peças da usina e geradores fabricadas com eles são: SAR 50B no conduto forçado, ASTM A743 no rotor, ASTM A276 410T para a roda e o eixo, ASTM A53 na tubulação, AISI 304 para o apoio da vedação das comportas, grade da tomada de água de drenagem e parafusos, ASTM A36 para peças fixas (sem pintura) e a liga Cu/Ni 90/10 para os trocadores de calor do gerador.

2.1 Amostras de biofilmes retirados dos corpos-de-prova

2.2.1 Inoculação

Os inóculos foram preparados por meio da adição de 1g de tubérculo de corrosão de cada CP em 9 mL de solução salina (NaCl 0,85%) esterilizada. Para a obtenção deste material raspou-se os CP's com lâminas esterilizadas (cada um dos CP's foram tratados separadamente).

2.2.2 Isolamento de bactérias aeróbicas e anaeróbicas facultativas

Após a homogeneização das amostras (inóculos) em um agitador de tubos, inoculou-se 100 µL destas em placas de Petri contendo meio caldo de soja (Tryptic soy casein – Acumedia) previamente esterilizado em autoclave a 121°C e 1 atm. O inóculo foi espalhado com alça de Drigalski e as placas foram incubadas à temperatura de 25°C em BOD, 2-3 dias. Além do Meio de caldo de soja, foram utilizados Ágar Mackonkey e Ágar Eosina Azul de Metileno para bactérias gram-negativas, que foram inoculados como descrito acima e incubados em estufa de cultivo a 36°C, 2-3 dias.

2.2.3 Isolamento de fungos

Utilizando-se o mesmo inóculo obtido dos CP's, inoculou-se 100 µL em placas com meio de cultura (BDA – Acumedia), previamente esterilizado em autoclave a 121°C e 1 atm. O inóculo foi espalhado com alça de Drigalski. As placas foram incubadas à temperatura de 25°C em BOD por 4-7 dias.

3.0 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Estudos microbiológicos

3.1.1 Contagem de bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas

Nas coletas realizadas, observou-se, em todas as ligas metálicas analisadas, que o número de bactérias totais era maior que o número de fungos isolados. As ligas SAR 50BN e AISI 410T apresentaram um número acima de 7×10^3 UFC/mL. Bactérias gram-negativas foram observadas em número elevado nas ligas AISI 410T e ASTM A743. A contagem de fungos foi maior na liga AISI 410T. Na segunda coleta, observa-se um aumento no número de fungos isolados, principalmente nas ligas SAR 50BN e ASTM A743, o que pode ser resultante do processo de colonização do biofilme, uma vez que os fungos, embora colonizadores primários, levam mais tempo para se desenvolver, em comparação com as bactérias. A presença destas bactérias nos tubérculos de corrosão dos CP's pode ser um fator desencadeante de processos microbiológicos que levam à formação de biofilmes e, em consequência, à biocorrosão. No grupo de bactérias gram-negativas destaca-se o gênero *Pseudomonas* sp, que desempenha um papel importante e bem documentado no estabelecimento dos biofilmes. Os fungos, por sua vez, são capazes de metabolizar compostos orgânicos complexos, como madeira, tinta, papel e polímeros de borracha, produzindo compostos orgânicos como ácidos e álcoois que favorecem a biocorrosão. Na formação de biofilmes, as bactérias aeróbicas e anaeróbicas facultativas são colonizadoras iniciais, sendo responsáveis pela alteração da superfície e criação de um ambiente favorável à adesão de outros microrganismos em fases posteriores, através da excreção de matriz extracelular (Exopolímero – EPS). Dentre os microrganismos que podem participar de processos de adesão estão: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas fluorescens*, *Micrococcus* sp e *Enterococcus faecium* (4, 5). Microrganismos patogênicos como *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella thyphimurium*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* também podem estar envolvidos nestes processos (6, 7). A maioria das espécies desse gênero são saprófitas. Entretanto, algumas espécies são oportunistas ou patógenos obrigatórios de humanos e animais. Os principais habitats são solos de todos os tipos (pH de ácido a alcalino, temperatura quente a fria, e fértil a deserto), colunas de águas e fundos depósitos de água doce ou salgada. Bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae estão amplamente dispersas na natureza e podem ser encontradas em solo, água, plantas e no tubo digestório de humanos e outros animais. Algumas espécies ocupam nichos ecológicos limitados, como *Salmonella typhi*, presente somente em humanos, já outras, como *Klebsiella pneumoniae*, estão bem distribuídas no ambiente, contribuindo para processos bioquímicos e geoquímicos. Além disso, esse grupo possui importância clínica por ser responsável por um grande número de infecções em humanos. *Pseudomonas* spp são bactérias Gram-negativas mundialmente distribuídas, com preferência por ambientes úmidos. São encontradas na água, no solo e em plantas, incluindo vegetais e frutas (algumas espécies são muito conhecidas como fitopatógenos). Microrganismos desse grupo possuem a habilidade de sobreviver em ambientes aquosos, particularmente *Pseudomonas aeruginosa*, que pode ser encontrada em piscinas e em tubulações.

3.1.2 Identificação dos isolados por macro e micromorfologia, bioquímica e biologia molecular

3.1.2.1 Bactérias: Identificação por macro, micromorfologia e bioquímica

A partir da coloração de Gram (8), verificou-se, nas coletas, a presença de bacilos gram-positivos, bacilos gram-negativos, cocobacilos gram-negativos, cocos gram-positivos, bactérias filamentosas gram-positivas e gram-negativas. Bactérias gram-positivas foram identificadas por meio de características morfológicas e provas bioquímicas específicas para o gênero *Bacillus* sp (9). Os grupos taxonômicos *Pseudomonas* sp e Enterobactérias (gram-negativas) foram determinados através de bioquímica e características morfológicas, segundo (8). Para detecção de presença/ausência e isolamento das colônias foi utilizado o biofilme retirado de cada corpo de prova e inoculado em meios de cultivo seletivos para cada gênero bacteriano, incubados em diversas temperaturas de cultivo, atendendo às exigências de cada grupo de microrganismo.

3.1.2.2 Avaliação da presença/ausência de bactérias oxidantes de ferro

O meio de cultivo Leathen-Mcintyre-Braley foi esterilizado em autoclave por 15-20 minutos, 121°C e 1 atm. Adicionou-se 10 mL de solução de sulfato ferroso 10% esterilizada em filtro millipore. O pH foi ajustado a 3,5 e 10 ml do meio foi distribuído em tubos de ensaio estéreis com tampa. Inoculou-se 1 ml da solução de inóculo e incubou-se em estufa de crescimento a 30°C por 15-20 dias. Realizou-se a coloração de Gram conforme (8) e as

lâminas foram comparadas com fotos existentes no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Adicionou-se 2 gotas de solução de Ferrocianeto de Potássio 1% em cada tubo teste. A coloração azul intenso (Azul da Prússia) indica a presença de Fe^{2+} insolúvel. Tubos com coloração azul, cujas bactérias foram identificadas como gram-negativas, com morfologia filamentosa são considerados positivos para presença de bactérias oxidantes de ferro (Figura 2). Os gêneros das ferrobactérias mais comuns que causam problemas quando presentes na água são: *Sphaerotillus*, *Leptothrix*, *Crenothrix* e *Gallionella*. Os três primeiros gêneros caracterizam-se pelo arranjo filamentoso de suas células, que são envolvidas por uma bainha, daí receberem também a denominação de bactérias com bainha. As bactérias do gênero *Gallionella* são unicelulares, retiformes ou encurvadas e segregam um filamento longo, em forma de fitas entrelaçadas, a partir do hidróxido férrico depositado na célula. Em águas superficiais poluídas, bactérias do gênero *Sphaerothilus*, em especial a *S. natans* formam tufos de filamentos que, além de apresentar odor e aspecto desagradável, formam flocos imensos de bactérias. Todos os CP's apresentaram positividade para bactérias oxidantes de ferro. As bactérias oxidantes de ferro possuem grande diversidade estrutural. Apresentam a capacidade de oxidar o ferro ferroso a férrico e, além da corrosão, são capazes de produzir flóculos e depósitos de "fouling" inorgânico e biológico nos sistemas de águas industriais, contribuindo para falhas mecânicas em diversos equipamentos industriais. Esses microrganismos autotróficos apresentam bainhas helicoidais perpendiculares ao eixo da célula, são constituídas por hidróxido de ferro, dissolvem-se em ácidos fortes e quando se desprendem, aumentam a quantidade de sólidos em suspensão, como na água de refrigeração (10).

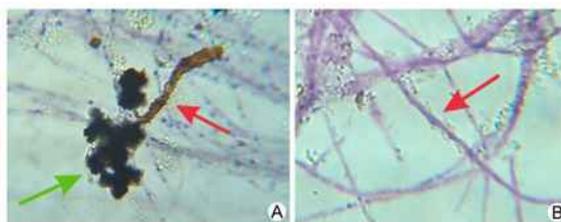


FIGURA 2 – Micromorfologia da bactéria do gênero *Gallionella* sp (Microscopia ótica 1000x), onde a seta vermelha indica o microrganismo e a seta verde indica óxido de ferro aderido ao microrganismo (A). Micromorfologia da bactéria do gênero *Sphaerotilus* sp (Microscopia ótica 1000x), onde a seta vermelha indica o microrganismo (B).

3.1.2.3 Avaliação da presença / ausência de Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS)

As amostras foram inoculadas em meio específico para bactérias redutoras de sulfato. Para este experimento foram utilizados tubos com ausência de oxigênio, necessária para o isolamento de BRS. A presença de BRS é assinalada pela formação de depósito de sulfeto férrico de cor preta após 20-50 dias de incubação em estufa de anaerobiose com circulação de gás carbono a 30°C. As BRS foram encontradas nas ligas metálicas: SAR50BN, ASTMA36 e ASTMA53. Todas apresentavam acentuados tubérculos de corrosão. Os corpos-de-prova SAR50BN apresentaram tubérculos, mas foram negativos para BRS com a metodologia convencional. Muitas bactérias relacionadas ao processo de corrosão fazem parte do ciclo do enxofre na natureza. Este ciclo é composto por microrganismos com diversidade metabólica, capazes de metabolizar compostos de enxofre por duas formas: Quimioautotrófica e Quimioheterotrófica. Algumas bactérias podem utilizar fumarato e piruvato, por exemplo, e originalmente foram classificadas em dois gêneros *Desulfovibrio* e *Desulfomaculum*, Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS). Diversos modelos foram estabelecidos para explicar os mecanismos que as BRS utilizam para acelerar a corrosão de superfícies metálicas: despolarização catódica por hidrogenase (11), despolarização anódica (10), Sulfetos (11), Sulfeto ferroso (12), componentes fosforosos voláteis (13), Sulfetos induzindo stress e rompimento por corrosão (14), Hidrogênio induzindo rompimento (14) e exopolímeros com ferro ligado (2). Além destes mecanismos existe a atividade redutora de sulfato. Os sulfetos produzidos são corrosivos, no entanto alguns derivados químicos dos sulfetos não possuem o mesmo grau de corrosividade (13; 14), demonstrando a importância dos bioprocessos e a irrelevância de experimentos que não levam em consideração o fator microbiológico. A hidrogenase de *Desulfovibrio vulgaris* (Hildenborough) é regulada pelo íon ferroso (Fe^{2+}), disponibilizando outro mecanismo para a corrosão, demonstrado por (15). No entanto, o mecanismo de influência dos íons ferro na corrosão influenciada por bactérias redutoras de sulfato (BRS) é um mecanismo complexo (1).

3.1.2.4 Identificação de BRS por técnicas de biologia molecular

Até recentemente, a diversidade dos microrganismos de amostras ambientais era avaliada apenas por caracterização fenotípica e genotípica de organismos cultiváveis em laboratório. Entretanto, estes representam apenas uma parcela da diversidade de microrganismos existentes. A identificação de bactérias anaeróbias, como *Desulfovibrio*, é difícil e demorada por meio dos métodos convencionais. Os microrganismos acidófilos, que aceleram a oxidação do ferro apresentam uma grande diversidade, porém seu isolamento e identificação também são dificultados por limitações técnicas. Na tentativa de minimizar estas dificuldades, a metagenômica surgiu como

uma estratégia para acessar a diversidade microbiana de amostras ambientais de maneira rápida e eficiente. O DNA purificado a partir da amostra é representativo de todos os microrganismos presentes nesta. Por meio de sua amplificação com primers específicos para determinadas seqüências de DNA, é possível identificar, dentre as inúmeras espécies presentes, apenas os microrganismos de interesse. A aplicação destes métodos permite o acesso à informação direta sobre a estrutura das comunidades presentes no biofilme. Genes que codificam RNA ribossômicos, como o 16S rRNA, foram usados para o desenho de primers que permitem a detecção de grupos de BRS (16) e aplicados para demonstrar a presença destas bactérias em diversos habitats, como biofilmes anaeróbios (17). Análises filogenéticas por meio de comparações entre seqüências de rRNA 16S permitem classificar os gêneros de BRS em grupos distintos (18) conforme descrito na Tabela 2. Seqüências de primers para amplificação de regiões do rDNA 16S recomendadas para identificação de grupos de BRS (19) e grupos de BRS encontrados nas coletas. Embora os testes clássicos sejam funcionais, a abordagem molecular permite uma maior acurácia na análise, eliminando possíveis falhas metodológicas ocasionadas pela fisiologia do microrganismo. Com o uso desta metodologia, as amostras negativas nos testes convencionais apresentaram resultado positivo (Tabela 2). Ainda, por meio deste tipo de estratégia, o tempo entre a coleta e a identificação é reduzido consideravelmente, em comparação com o período despendido com os testes convencionais, que podem levar até cinquenta dias para a leitura dos resultados. O Grupo 1, que compreende o gênero de BRS *Desulfotomaculum* sp, não foi encontrado na primeira coleta em nenhum dos metais. Este gênero contém espécies termófilas, capazes de viver em ambientes extremos. O Grupo 3, composto por *Desulfobacterium* sp, também não foi encontrado em nenhum dos metais, Tabela 2. O Grupo 2, representado pelo gênero *Desulfobulbus* sp, foi observado nos metais INOX AISI304, Cu/Ni 90/10, AISI 410T e ASTM A743, na primeira coleta. Na segunda coleta, também foi encontrado no metal ASTM A53, enquanto o Grupo 4 foi isolado apenas do metal Cu/Ni 90/10, em ambas as coletas (Tabela 2). O Grupo 5 compreende os gêneros *Desulfovibrio* sp, *Desulfosarcina* sp, *Desulfococcus* sp e *Desulfonema* sp, e foi isolado dos metais INOX AISI 304, AISI 410T e ASTM A743, na primeira coleta. Na segunda coleta, todos os metais apresentaram DNA de BRS deste grupo (Tabela 2). O Grupo 6, composto por *Desulfovibrio* sp, foi encontrado nos metais Cu/Ni 90/10, SAR 50BN, ASTM A36, ASTM A743 e ASTM A53 na primeira coleta. Na segunda coleta, foi encontrado também no metal AISI 410T.

Tabela 2. Classificação dos generos de BRS

Primers	Tamanho dos fragmentos (pb)	Grupos	Gêneros	Metais onde foram encontrados	Coleta	
					1	2
DCC305 e DCC1165	860	5	<i>Desulfovibrio</i> sp; <i>Desulfosarcina</i> sp; <i>Desulfococcus</i> sp e <i>Desulfonema</i> sp	INOX AISI 304	X	X
				Cu/Ni 90/1	---	X
				SAR 50BN	---	X
				AISI 410T	X	X
				ASTM A36	---	X
				ASTM A743	X	X
DSV230 e DSV838	610	6	<i>Desulfovibrio</i> sp	INOX AISI3040	X	X
				Cu/Ni 90/10	X	X
				SAR 50BN	X	X
				AISI 410T	---	X
				ASTM A36	X	X
				ASTM A743	X	X
DFM140 e DFM842	700	1	<i>Desulfotomaculum</i> sp	---	---	---
				---	---	---
DBB121 e DBB1237	1120	2	<i>Desulfobulbus</i> sp	INOX AISI304	X	X
				Cu/Ni 90/10	X	---
				SAR 50BN	---	---
				AISI 410T	X	X
				ASTM A36	---	---
				ASTM A743	X	---
DBM169 e DBM1006	840	3	<i>Desulfobacterium</i> sp	---	---	---
				---	---	---
DSB127 e DSB1273	1150	4	<i>Desulfobacter</i> sp	Cu/Ni 90/10	X	X

3.1.2.5 Fungos: Identificação por macro e micromorfologia

Utilizando-se o inóculo obtido dos CP's, inoculou-se em meio de cultura (BDA – Acumedia). Foi realizada por meio da observação de estruturas de reprodução, utilizando a técnica do microcultivo em lâminas, após 7 a 14 dias (20). Após o cultivo, as lâminas foram fixadas, coradas com lactofenol com 0,05% de azul de algodão e lactofenol de Amann e analisadas ao microscópio óptico (aumento 400X). A classificação dos fungos foi realizada através de observações das preparações microscópicas com utilização de literatura especializada (21–23). Os principais gêneros encontrados foram *Aspergillus* sp, *Paecilomyces* sp, *Penicillium* sp, *Trichoderma* sp, *Phoma* sp, *Rhizopus*

sp, *Chaetomium* sp, *Cladosporium* sp, *Epicocum* sp, *Stysanus* sp, e *Beauveria* sp (Figura 3). De forma geral, observou-se que, na segunda coleta, realizada cerca de três meses após a primeira, houve maior número de microrganismos, principalmente em relação aos fungos, assim como maior diversidade de gêneros fúngicos isolados. Este fato pode ser resultante da colonização inicial por bactérias e fungos, os quais propiciaram condições adequadas ao desenvolvimento de novos grupos bacterianos e fúngicos.

3.1.2.6 Análise colimétrica da água do reservatório

As análises colimétricas da água foram realizadas pelo CEPPA – Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos da UFPR. As amostras foram analisadas pelo método enzimático, de acordo com o Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (2005). Na Tabela 3 mostram-se os resultados obtidos.

Tabela 3. Resultados da análise colimétrica das águas do reservatório e do rio (jusante).

Água	Barragem		Jusante	
	Superfície	Fundo	Superfície	Fundo
Coliformes totais NMP/100 mL	$5,5 \times 10^2$	1×10^3	$2,4 \times 10^3$	$4,6 \times 10^3$
Contagem de <i>E. coli</i> NMP/100 mL	$2,3 \times 10^1$	$7,6 \times 10^1$	$2,0 \times 10^2$	$3,1 \times 10^2$

O grupo Coliforme compreende bactérias da família Enterobacteriaceae, bacilos gram-negativos, não produtores de esporos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$. São descritas aproximadamente 20 espécies, as quais podem ser encontradas no trato intestinal de humanos e outros animais endotérmico. Os coliformes totais compreendem os gêneros *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Escherichia coli*. Os coliformes fecais são representados principalmente pela *E. coli*, capaz de fermentar a lactose com produção de gás, em 24h a $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$, sendo também denominada coliforme termotolerante. Embora estas bactérias raramente causem patologias nos seres humanos, outras bactérias que habitam o intestino podem sim, ser responsáveis por graves doenças, como *Salmonella*, *Vibrio cholerae*, entre outras, daí sua importância como indicadores de contaminação fecal. Bactérias do grupo Coliforme foram detectadas nas amostras coletadas na superfície e no fundo da barragem, assim como a jusante. Estas bactérias podem estar relacionadas com a formação de biofilmes e conseqüente biocorrosão dos metais. BERMONT-BOUIS et al. (24), sugerem que estas bactérias podem ser precursoras na colonização das superfícies dos metais, levando ao desenvolvimento de biofilmes e propiciando um ambiente favorável para a adesão de outras espécies bacterianas e fúngicas.

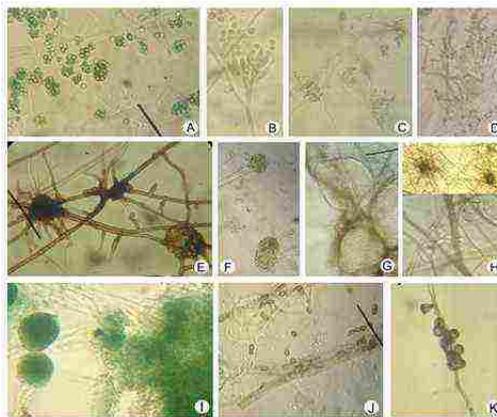


Figura 3 – Micromorfologia dos fungos isolados dos CP's (Microscopia ótica 400x). Gêneros: (A) *Trichoderma* sp; (B) *Penicillium* sp1 (C) *Cladosporium* sp; (D) *Penicillium* sp2; (E) *Phoma* sp1; (F) *Aspergillus* sp; (G) *Phoma* sp2; (H) *Chaetomium* sp, (I) *Penicillium* sp3, (J) *Stysanus* sp, (K) *Epicocum* sp

3.2 Estudos de velocidade de corrosão

Foram realizadas medidas de potencial de corrosão, E_{corr} , em função do tempo de imersão imediatamente após a imersão dos CP's. Também foram realizadas medidas de polarização quase estacionária para obtenção dos diagramas de Evans e medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica. Estes dois tipos de medidas, quando analisadas conjuntamente, permitem obter informações importantes sobre os fenômenos que estão acontecendo sobre os metais. Observações iniciais sobre depósitos de lama nos fundos das caixas de acrílico: na estação de corrosão de jusante, as caixas com tomadas de água de superfície e do fundo do rio ficaram com

circulação de água, inclusive aquelas sem corpos-de-prova (uma de cada tipo de água) durante 13 dias. Verifica-se maior quantidade de depósito na caixa que circulou água captada próximo do fundo do rio. Este acúmulo de lama pode certamente prejudicar a durabilidade dos materiais por ela cobertos, aumentando a corrosão dos metais e podendo gerar fenômenos localizados devido a microrganismos e/ou aeração diferencial. As medidas de E_{corr} e velocidade se realizaram utilizando um eletrodo de Ag/AgCl/KCl 1 M como referência. No caso das medidas de velocidade de corrosão foi utilizado um potenciostato/galvanostato, introduzindo uma tela de aço inoxidável de 22 cm x 100 cm, paralelo a uma das faces das caixas de acrílico como terceiro eletrodo. As técnicas eletroquímicas usadas para determinação das velocidades de corrosão foram polarização potenciodinâmica a velocidades de 5 mV/s desde valores catódicos do potencial respeito do potencial de corrosão, aproximadamente 500 mV, até 500 mV anódicos respeito do mesmo E_{corr} , e a técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica – EIS – usando 10 mV de amplitude de potencial, no E_{corr} , e com frequências entre 10^5 e 10^{-2} Hz. Estas duas medidas são complementares, já que a técnica de EIS permite o cálculo da resistência ôhmica do sistema, importante em sistemas de alta resistividade. Na figura 4 se observam as medidas de E_{corr} vs. t para a estação de corrosão localizada na barragem, tomada de água profunda. Os CP's de AISI 410T, ASTM A53 e ASTM A36 mostram valores de potenciais negativos, correspondentes à região de dissolução ativa nos diagramas de Pourbaix. No caso do AISI 304, ASTM A743 e SAR 50BN permanecem dentro da região de passividade, ou seja, com velocidade de corrosão muito lenta por formação de um filme protetor. No caso da liga de Cu/Ni 90/10, os potenciais indicam também uma tendência à formação de um filme protetor. Este tipo de comportamento dos diferentes materiais estudados se repete nas outras estações de corrosão, como por exemplo na estação de corrosão instalada no canal de fuga. Estas medidas mostram a tendência dos metais a serem corroídos mais não indicam a velocidade de corrosão que são indicadas pelos valores de correntes de corrosão de cada tipo de metal imerso nas quatro estações de corrosão. Os resultados são mostrados nas Figuras 5 a 7.

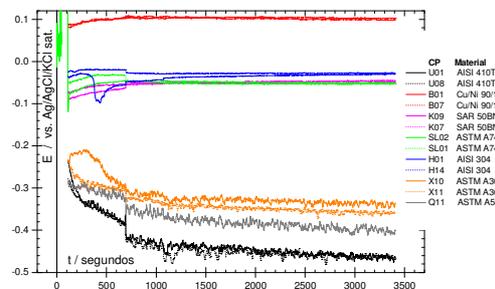


Figura 4. E_{corr} vs. tempo, estação de corrosão instalada na barragem com tomada de água profunda.

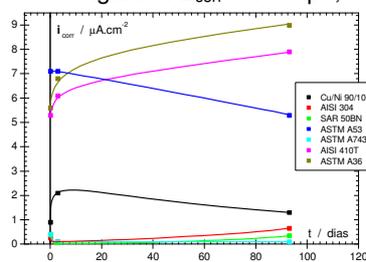


Figura 6. i_{corr} vs. tempo, estação de corrosão instalada na barragem com tomada de água profunda.

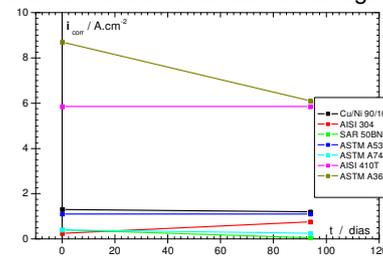


Figura 7. i_{corr} vs. tempo, estação de corrosão instalada na barragem com tomada de água superficial.

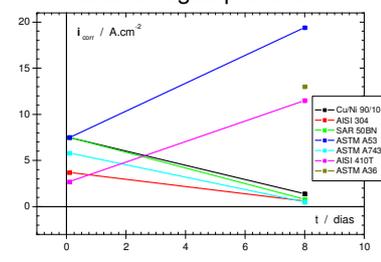


Figura 8. i_{corr} vs. tempo, estação de corrosão instalada no canal de fuga com tomada de água profunda.

3.0 - CONCLUSÃO

- Embora a corrosão microbológica não tenha sido detectada visualmente em todos os metais analisados, verificou-se, por meio das análises realizadas, a presença de microrganismos potencialmente capazes de promover corrosão.
- Os tubérculos de corrosão apresentaram uma grande biodiversidade de microrganismos, demonstrada pela presença de bactérias gram-negativas, gram-positivas e diversos gêneros de fungos, nas amostras analisadas.
- Bactérias oxidantes de ferro foram isoladas de todas as amostras.
- Bactérias redutoras de sulfato (BRS) foram isoladas de todas as ligas metálicas, sendo os grupos 2 (*Desulfobulbus* sp), 5 (*Desulfovibrio* sp, *Desulfonema* sp, *Desulfosarcina* sp, *Desulfococcus* sp) e 6 (*Desulfovibrio* sp) mais representativos.
- Os microrganismos isolados são, comprovadamente, associados à biocorrosão e ao “biofouling”.

Na estação de corrosão da barragem com circulação de água tomada das regiões mais profundas evidenciaram-se pelo seu comportamento nas medidas de corrosão três grupos de corpos-de-prova: os de Cu/Ni 90/10, os de aço AISI 304, SAR 50BN e ASTM A743, e os de aço ASTM A53, ASTM A36 e AISI 410T. As características gerais

determinadas podem ser analisadas na Tabela 6. A estação de corrosão da barragem na qual circula água captada na região mais superficial apresenta as mesmas características gerais, inclusive com velocidades de corrosão muito semelhantes entre as duas estações da barragem. Para estas estações de corrosão localizadas a montante verificou-se que existem diferenças significativas no aspecto visual nos materiais do grupo com maior velocidade de corrosão. É importante notar que os corpos-de-prova de aço que pertencem ao grupo com menor velocidade de corrosão se apresentam quase sem alterações visíveis. Na estação de corrosão localizada próximo ao canal de fuga, com captação de água nas regiões mais profundas do rio, também se verifica a existência dos três grupos de materiais citados, com os mesmos materiais em cada grupo. Mas a velocidade de corrosão é maior, entre 1,5 e 2 vezes, do valor medido para os corpos-de-prova nos quais circula água captada das regiões mais profundas ou superficiais da barragem. Evidencia-se desta forma que a água do rio nesta região é mais corrosiva que na região da barragem, possivelmente pela mistura das águas do rio Itajaí-açu com as do rio Hercílio após este último passar pela cidade de Ibirama.

Tabela 6. Avaliação geral dos CP's da estação de corrosão da barragem, água mais profunda.

Grupo	Material	Propriedades
1	Cu/Ni 90/10	Velocidade de corrosão dentro dos valores esperados, relativamente baixos e com potenciais de corrosão dentro da região de passivação.
2	AISI 304	Potenciais de corrosão dentro da região de formação do filme de passivação, velocidades de corrosão baixas e sem grandes mudanças no tempo do estudo. Possibilidade de desenvolvimento de corrosão de origem microbiológico.
	SAR 50BN	
	ASTM A743	
3	ASTM A53	Potenciais de corrosão dentro da região de corrosão ativa, velocidades de corrosão elevadas e com tendência a aumentar durante o tempo do estudo. Grande possibilidade de desenvolvimento de corrosão de origem microbiológico.
	ASTM A36	
	AISI 410T	

Este trabalho mostra a extrema importância da realização de uma adequada proteção anticorrosiva em tubulações de centrais hidroelétricas, não somente nos condutos forçados, mas também uma proteção em todo o sistema pelo qual circula água do reservatório sem nenhum tipo de tratamento como nos sistemas de resfriamento das unidades geradoras. Recomenda-se nestes casos a utilização de biocidas no sistema de resfriamento.

4.0 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) VIDELA, H. A.; *Int. Biodet. and Biodegradation*, **49** (2002) 259 – 270.
- (2) BEECH, I. B.; *Int. Biodet. and Biodegradation*, **53** (2004) 177 – 183.
- (3) PICIOREANU, C., XAVIER, J. B., VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; *Biofilms*, **1** (2004) 337 – 349.
- (4) CRIADO, M. T., SUÁREZ, B., FERRERÓS, C. M.; *Food Technology*, **48**, (1994) 123 – 126.
- (5) ANDRADE, N. J., BRIDGEMAN, T. A., ZOTTOLA, E. A.; *J. Food Protection*, **61** (1998) 833 – 838.
- (6) SURMAN, S., MORTON, G., KEEVIL, B.; “Biofilms: an overview”, *PHLS Microbiology Digest*, **13** (1996) 33 – 38.
- (7) LERICHE, V., CARPENTIER, B.; *J. Food Protection*, **58** (1995) 1186 – 1191.
- (8) KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; DOWELL, V. R.; JANDA, W. M.; SOMMERS, H. M.; WINN, W. C.; “Diagnóstico microbiológico”, 4ª edição, Ed. Médica Panamericana (2001).
- (9) BUCHANAN, R. E., GIBBONS, N. E. *Bergey's Man. Determinative Bacter.*, 8ª ed., Willians & Wilkins (1974).
- (10) VIDELA, H. A. *Biocorrosão, Biofouling e Biodeterioração de Materiais*. 1ª ed., Ed. E. Blucher Ltda. (2003).
- (11) BRYANT R.D.; JANSEN, W.; BOVIN, J.; LAISHLEY, E.J.; *App. Env. Microbiology*, **57** (1991) 2804 – 2809.
- (12) LITTLE, B. J.; WAGNER, P.A.; LEWANDOWSKI, Z. The relationship between biomineralization and microbiologically influenced corrosion. eds. C. C. Gaylarde, T. C. P. Barbosa and N. H. Gabilan, The British Phycological Society, UK, (1998).
- (13) IVERSON, I.P.; OLSON, G.J. In: *Microbial Corrosion*, Metals Society, London, 46 – 53, (1983).
- (14) EDYVEAN, R. G., BENSON, J., THOMAS, C. J., BEECH, I. B., VIDELA, H.; *Mat. Perform.*, **37** (1998) 40 – 44.
- (15) CHEUNG, C. W. S., BEECH, I. B.; *Biofouling*, **9** (1996) 231 – 249.
- (16) DEVEREUX, R., KANE, M. D., WINFREY, J., STAHL, D. A. *Syst. Appl. Microb.*, **15** (1992) 601 – 609.
- (17) DEVEREUX, R., HINES, M. E., STAHL, D. A.; *Microbial Ecology*, **32** (1996) 283 – 292.
- (18) DEVEREUX, R., DELANEY, M., WIDDEL, F. & STAHL, D. A.; *J. Bacteriology*, **171** (1989) 6689 – 6695.
- (19) DALY, K., SHARP, R. J., MCCARTHY, A. J.; *Microbiology*, **146** (2000) 1693 – 1705.
- (20) KERN, M. E.; *Medical mycology: A self- instructional text*. 3 ed. Philadelphia: F.A. Davis Company, 1988.
- (21) HOOG, G. S.; GUARRO, J.; GENÉ, J.; FIGUERAS, M. J. *Atlas of Clinical Fungi*, CD – Version 2004.
- (22) KLICH, M. A.; PITT, J. I. *Common Aspergillus Species and their Teleomorphs*. Austrália: Commonwealth Scientific and Industrial research Organization, p.116, (1988).

(23) BARNETT, H. C.; HUNTER, B.B. Illustrated genera of imperfect fungi. 3ed., Minneapolis: Burgess Publications, (1987).

(24) BERMOUNT-BOUIS, D., JANVIER, M., GRIMONT, P., DUPONT, I., VALLAEYS, T.; *J. App. Microb.*, **102** (2007) 161 – 168.

5.0 - DADOS BIOGRÁFICOS

Nome: Carlos Mario Garcia

Buenos Aires, Argentina, 1950;

Buenos Aires, Argentina (Universidade de Buenos Aires), graduação 1976/doutorado 1988

Área de atuação: físico – química, eletroquímica, corrosão e proteção anticorrosiva, desde 1976.