



# UFAL

**INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA**

**SHEYLA FERREIRA LIMA-COELHO**

**CORROSÃO DE AÇO CARBONO EM CONCRETOS  
MICROBIOLOGICAMENTE AFETADOS**

**Universidade Federal de Alagoas**

**Campus A. C. Simões  
Tabuleiro do Martins  
57072-970 - Maceió-AL**

2015

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA**

**SHEYLA FERREIRA LIMA-COELHO**

**CORROSÃO DE AÇO CARBONO EM CONCRETOS MICROBIOLOGICAMENTE AFETADOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Josealdo Tonholo  
Coorientadora: Profa. Dra. Sônia Salgueiro Machado

**Maceió**

**2015**

**Catlogação na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
**Bibliotecário Responsável: Valter dos Santos Andrade**

C672c Coelho, Sheyla Ferreira Lima.  
Corrosão de aço carbono em concretos microbiologicamente afetados /  
Sheyla Ferreira Lima Coelho. – 2015.  
113 f. : il. tabs., graf.

Orientador: Josealdo Tonholo.  
Coorientadora: Sônia Salgueiro Machado.  
Tese (doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de  
Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Programa de Pós-Graduação  
Em Química e Biotecnologia. Maceió, 2015.

Bibliografia: f. 101-111.  
Apêndices: f. 112-114.

1. Corrosão microbiológica. 2. Quitosana. 3. Biopolímero. 4. Concreto.  
5. Aço carbono. I. Título.

CDU: 544:691.32



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E  
BIOTECNOLOGIA



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões  
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins  
57072-970, Maceió-AL, Brasil  
Fone: (82) 3214-1144  
Email: ppgqb.ufal@gmail.com

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese da Doutoranda **Sheyla Ferreira Lima Coelho**, intitulada: “**Corrosão de aço carbono em concretos microbiologicamente afetados**”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas no dia 21 de agosto de 2015, às 14h, na Sala de Reuniões do IQB, na Universidade Federal de Alagoas.

### COMISSÃO JULGADORA

Prof. Josealdo Tonholo  
(Orientador – PPGQB/IQB/UFAL)

Prof. Dra. Sônia Salgueiro Machado  
(Coorientadora - IQB/UFAL)

Prof. Dra. Sílvia Beatriz Beger Uchôa  
(CTEC/UFAL)

Prof. Dr. José Ginaldo da Silva Junior  
(IFAL)

Prof. Dra. Francine Santos de Paula  
(IQB/UFAL)

Prof. Dra. Carmem Lúcia de Paiva e Silva Zanta  
(PPGQB/IQB/UFAL)

**Ao meu Deus...**

*“Que darei eu ao SENHOR, por todos os benefícios que me tem feito?*

*Tomarei o cálice da salvação, e invocarei o nome do SENHOR.*

*Pagarei os meus votos ao SENHOR na presença de todo o seu povo.”*

(Salmos 116: 12-14)

## **AGRADECIMENTOS**

Ao prof. Dr. Josealdo Tonholo, por se fazer presente, mesmo estando longe, pela amizade e confiança.

À profa. Dra. Sônia Salgueiro Machado, pela acolhida e por toda a ajuda.

À profa. Dra. Sílvia Uchôa, pela atenção e disposição a mim dispensada.

À professora Carmen Zanta e aos colegas do LEAp, pelo companheirismo, especialmente à Caroline Batista e Cantídio Neto, pela disposição em ajudar com o MEV e à Natália, Jaceguai e Antenor pelos bons momentos de descontração.

Aos colegas do Laboratório de Biotecnologia e Enzimologia, principalmente à Jaqueline pela ajuda com a estatística.

À Polymar, que cedeu a quitosana utilizada nos ensaios.

Ao meu marido e amor, Abel Coelho, por ter sido presente e compreensivo nas horas mais difíceis... são tantas coisas para agradecer que não caberiam aqui.

Às minhas filhas Elis e Luísa que souberam ser pacientes nesses 4 longos anos.

À minha mãe e meus irmãos pelo incentivo, apoio e orações.

Ao meu pai Ademar Ferreira Lima, pela ajuda na confecção dos corpos de prova (sei que deu muito trabalho painho) mesmo com seus 80 anos de idade.

Aos demais professores do PPGQB, que me transmitiram conteúdo essencial para o desenvolvimento do meu trabalho.

Aos membros da banca pelas contribuições e correções.

À Direção de Ensino, Departamento de Ensino Superior e professores da Coordenação de Ciências Biológicas do IFAL, campus Maceió, pelo incentivo e compreensão.

Ao CNPq, CAPES, FAPEAL, FINEP (Proinfra, Ctenerg, Funtel), INCT/INAMI e FUNDEPES pelo apoio financeiro e na gestão dos projetos.

*“Para o espírito científico qualquer conhecimento  
é uma resposta a uma pergunta.  
Se não tem pergunta não pode ter  
conhecimento científico.  
Nada se dá, tudo se constrói.”*

(G. Bachelard)

## RESUMO

A corrosão da armadura do concreto é um problema que causa prejuízos incalculáveis e custos excessivos de recuperação. No que diz respeito à corrosão microbiológica, é de extrema importância conhecer quão ativa é a influência dos microrganismos nos processos de corrosão de armaduras metálicas suscetíveis ao seu ataque e qual a efetiva contribuição de biopolímeros na inibição da corrosão. O uso de biopolímeros como a Quitosana, demonstrou eficácia no controle da corrosão provocada por difusão de cloretos, porém o seu uso ainda não foi testado na prevenção da biocorrosão. Diante disto, objetivou-se estudar o efeito da adição de quitosana na corrosão microbiológica do aço carbono CA-50 e CA-25 em solução simuladora e em concreto. Testes de perda de massa para cálculo da corrente de corrosão e medidas de diferença de potencial foram empregados para avaliar a corrosão de corpos de prova de aço carbono CA 25 e CA 50, e corpos de prova de aço e concreto, na presença e ausência de quitosana, frente à ação dos seguintes microrganismos: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mucor rouxii*, *Aspergillus niger*, *Penicillium oxalicum*, e *Fusarium solani*. Os testes realizados com a quitosana em meio de concreto simulado sem adição de microrganismos mostram a quitosana como um bom inibidor de corrosão por cloretos, principalmente para o aço CA 50. *E.coli* apresentou-se como promotora de corrosão do aço carbono, com efeito maximizado na presença de quitosana. *P. aeruginosa* revelou-se como único microrganismo que não agravou a corrosão em nenhum dos tratamentos testados e ainda apresentou um surpreendente efeito inibidor de corrosão na ausência de quitosana. Quanto aos fungos filamentosos, enquanto o *M. rouxii* não causou alteração de comportamento corrosivo sobre o aço carbono, os demais revelaram aumento da corrente de corrosão na presença de quitosana em solução simuladora de concreto. Por sua vez, *F. solani* e *P. oxalicum* revelaram efeito inibidor da corrosão de aço carbono (80 e 70%, respectivamente) quando da ausência de quitosana. Os mesmos microrganismos foram utilizados para avaliar a corrosão em corpos de prova de aço imobilizados em concreto pela técnica de potencial de circuito aberto. Com exceção ao *A. niger*, os fungos filamentosos e as bactérias não apresentaram evidências de interferência no processo corrosivo do aço, independente da presença da quitosana. Tais resultados permitem observar a segurança do uso da quitosana como inibidor de corrosão de aço carbono em concreto, pelo menos do ponto de vista do efeito de indução de corrosão por esses microrganismos.

Palavras chave: Biopolímero. Corrosão microbiológica. Quitosana. Concreto. Aço Carbono

## ABSTRACT

Concrete corrosion is an important issue responsible for incalculable damage and excessive costs recovery. Regarding to microbial corrosion, it is utmost to understand how active is the influence of microorganisms on the corrosion of metal armors susceptible to its attack and how effective is the contribution of biopolymers on corrosion inhibition. The addition of biopolymers such as chitosan has demonstrated efficiency controlling the armor corrosion caused by chlorides diffusion, however its effect has not been tested on biocorrosion prevention yet. Based on that, this study aimed to investigate the effect of chitosan addition on microbiological corrosion of carbon steel CA-50 and CA-25 on a simulated solution and on concrete. Mass loss tests to calculate corrosion's electrical current and potential difference measures were used to assess the corrosion of carbon steel CA-25 and CA-50-proof test specimens, and steel and concrete specimens, in the presence and absence of chitosan, to the action of the following microorganisms: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mucor rouxii*, *Aspergillus niger*, *Penicillium oxalicum*, and *Fusarium solani*. Concrete with steel CA 50 enhanced with chitosan without microorganisms exposure showed inhibitory effect of chitosan on chlorides exposure. The tests with chitosan in the middle of simulated concrete without addition of microorganisms show chitosan as a good corrosion inhibitor for chlorides, mainly for steel CA 50. *E.coli* presented itself as a promoter of the carbon steel corrosion, with maximized effect in the presence of chitosan. *P. aeruginosa* was revealed as the only microorganism which did not aggravate corrosion in any of the treatments tested and showed a surprising effect corrosion inhibitor in the absence of chitosan. As for filamentous fungi, while the *M. rouxii* did not cause corrosion behavior change on carbon steel, others have shown increased corrosion electrical current in the presence of chitosan in a simulated concrete solution. In turn, *F. solani* and *P. oxalicum* showed inhibitory effect for carbon steel corrosion (80 and 70%, respectively) when in the absence of chitosan. The same strains were used to evaluate corrosion on steel test specimens (C25) immobilized on concrete by the open-circuit potential technique. Except the *A. niger*, filamentous fungi and bacteria showed no evidence of interference in steel's corrosive process, regardless of the presence of chitosan. These results allow to observe the safety of the use of chitosan as carbon steel corrosion inhibitor on concrete, at least from the point of view of corrosion inducing effect by these microorganisms.

Keywords: Biopolymer. Microbiological corrosion. Chitosan. Concrete. Carbon steel

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Publicações tecnológicas acerca do tema corrosão por ano. ....	22
Figura 2. Ciclo dos Metais.....	23
Figura 3. Esquema da corrosão microbiológica de uma barra de ferro sob uma colônia microbiana. ....	28
Figura 4. Quitosana.....	41
Figura 5. Quitina .....	41
Figura 6. Corpos de prova de aço CA 25 (A) e CA 50 (B). ....	59
Figura 7. Lixamento mecânico dos corpos de prova. ....	59
Figura 9. Concreto sendo preparado em betoneira .....	61
Figura 8. Funil V.....	61
Figura 10. Caixa L.....	61
Figura 11. Cone de Abrams .....	61
Figura 12. Confecção dos corpos de prova de aço e concreto. ....	62
Figura 13. Corpo de prova de aço e concreto (A) e esquema do seu interior (B). ....	63
Figura 14. Interior do dessecador contendo corpos de prova metálicos utilizados para o teste de perda de massa na presença de <i>E. coli</i> e <i>P aeruginosa</i> . ....	67
Figura 15. Frascos de Erlenmeyer contendo corpos de prova de aço CA 25 e CA 50 para experimento de perda de massa na presença de fungos filamentosos. ....	68
Figura 16. Experimento de perda de massa em corpos de prova de aço CA50 imersos em A- Controle, B- 10% de solução de quitosana, aos 30 dias de duração. ....	69
Figura 17. Corrente de corrosão do aço CA 50 na ausência de microrganismos, em solução saturada de $\text{Ca(OH)}_2$ com adição de NaCl (3,5%), com diferentes concentrações de quitosana, em 30 dias. ....	70
Figura 18. Corrente de corrosão em aço CA 50 na ausência de microrganismos, em solução saturada de $\text{Ca(OH)}_2$ com adição de NaCl (3,5%), com diferentes concentrações de quitosana, em 90 dias. ....	70
Figura 19. Corrente de corrosão em aço CA 25 ausência de microrganismos, em solução saturada de $\text{Ca(OH)}_2$ com adição de NaCl (3,5%), com diferentes concentrações de quitosana, em 90 dias. ....	72

Figura 20. Corrente de corrosão dos aços CA 25 e CA 50 (média ± desvio padrão) na ausência de microrganismos (controles) em meio de cultura nutriente contendo solução saturada de Ca(OH) <sub>2</sub> em 30 dias. ....	73
Figura 21. Experimento de perda de massa em meio de cultura nutriente contendo <i>E. coli</i> . Início, à esquerda e fim do experimento, à direita. ....	74
Figura 22. Corrente de corrosão do aço CA 25 e CA 50 (média ± desvio padrão), em meio CN com e sem quitosana, contendo <i>E. coli</i> por 30 dias. ....	75
Figura 23. Corrente de corrosão do aço CA 25 e CA 50 (média ± desvio padrão), em meio CN com e sem quitosana contendo <i>P. aeruginosa</i> em 30 dias. ....	75
Figura 24. Corrente de corrosão do aço CA 25 (média ± desvio padrão) em meio CN. Meio com adição de quitosana, contendo <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i> em comparação ao controle no período de 30 dias. ....	76
Figura 25. Corrente de corrosão do aço CA 25 (média ± desvio padrão) em meio CN. Meio sem adição de quitosana, contendo <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i> em comparação ao controle no período de 30 dias. ....	76
Figura 26. Corrente de corrosão do aço CA 50 (média ± desvio padrão), em meio CN. Meio com adição de quitosana contendo <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i> em comparação ao controle no período de 30 dias. ....	77
Figura 27. Corrente de corrosão do aço CA 50 (média ± desvio padrão) em meio CN. Meio sem adição de quitosana, contendo <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i> em comparação ao controle no período de 30 dias. ....	77
Figura 28. Corrente de corrosão do aço CA 25 (média ± desvio padrão) em meio BD (pH 5,5). Meio sem adição de quitosana, contendo fungos filamentosos em comparação ao controle no período de 30 dias. ....	79
Figura 29. Corrente de corrosão do aço CA 50 (média ± desvio padrão) em meio BD (pH 5,5). Meio sem adição de quitosana, contendo fungos filamentosos em comparação ao controle no período de 30 dias. ....	79
Figura 30. Corrente de corrosão do aço CA 25 (média ± desvio padrão) em meio BD (pH 5,5). Meio com adição de quitosana, contendo fungos filamentosos em comparação ao controle no período de 30 dias. ....	80
Figura 31. Corrente de corrosão do aço CA 50 (média ± desvio padrão) em meio BD (pH 5,5). Meio com adição de quitosana, contendo fungos filamentosos em comparação ao controle no período de 30 dias. ....	81
Figura 32. Comparativo entre a corrente de corrosão do aço CA 25 (média ± desvio padrão) em meio BD (pH 5,5) na presença de <i>F. solani</i> em meio sem quitosana e com adição de quitosana no período de 30 dias. ....	82

Figura 33. Comparativo entre a corrente de corrosão do aço CA 50 (média ± desvio padrão) em meio BD (pH 5,5) na presença de <i>F. solani</i> em meio sem quitosana e com adição de quitosana no período de 30 dias. ....	82
Figura 34. Comparativo entre a corrente de corrosão do aço CA 25 (média ± desvio padrão) em meio BD (pH 5,5) na presença de <i>P. oxalicum</i> em meio sem quitosana e com adição de quitosana no período de 30 dias. ....	83
Figura 35. Comparativo entre a corrente de corrosão do aço CA 50 (média ± desvio padrão) em meio BD (pH 5,5) na presença de <i>P. oxalicum</i> em meio sem quitosana e com adição de quitosana no período de 30 dias. ....	83
Figura 36. Comparativo entre a corrente de corrosão do aço CA 25 (média ± desvio padrão) em meio BD (pH 5,5) na presença de <i>M. rouxii</i> em meio sem quitosana e com adição de quitosana no período de 30 dias. ....	84
Figura 37. Comparativo entre a corrente de corrosão do aço CA 50 (média ± desvio padrão) em meio BD (pH 5,5) na presença de <i>M. rouxii</i> em meio sem quitosana e com adição de quitosana no período de 30 dias. ....	84
Figura 38. Comparativo entre a corrente de corrosão do aço CA 25 (média ± desvio padrão) em meio BD (pH 5,5) na presença de <i>A. niger</i> em meio sem quitosana e com adição de quitosana no período de 30 dias. ....	85
Figura 39. Comparativo entre a corrente de corrosão do aço CA 50 (média ± desvio padrão) em meio BD (pH 5,5) na presença de <i>A. niger</i> em meio sem quitosana e com adição de quitosana no período de 30 dias. ....	85
Figura 40. Experimento utilizando os corpos de prova de concreto. ....	88
Figura 41. Testes de DDP com fungos filamentosos. ....	89
Figura 42. Medidas de DDP em corpos de prova de aço carbono CA 25 imersos em meio BD (pH 5,5), sem quitosana, na presença de fungos filamentosos em 31 dias	90
Figura 43. Medidas de DDP em corpos de prova de aço carbono CA50 imersos em meio BD (pH 5,5), sem quitosana, na presença de fungos filamentosos em 31 dias. ....	91
Figura 44. Medidas de DDP em corpos de aço carbono CA 25 e CA 50 imersos em meio BD (pH 5,5) com (CQ) e sem quitosana (SQ), na presença de <i>M. rouxii</i> durante 31 dias. ....	91
Figura 45. Medidas de DDP em corpos de aço carbono CA 25 e CA 50 imersos em meio BD (pH 5,5) com (CQ) e sem quitosana (SQ), na presença de <i>F. solani</i> durante 31 dias. ....	92
Figura 46. Medidas de DDP em corpos de aço carbono CA 25 e CA 50 imersos em meio BD (pH 5,5) com (CQ) e sem quitosana (SQ), na presença de <i>A. niger</i> durante 31 dias. ....	92

Figura 47. Medidas de DDP em corpos de aço carbono CA 25 e CA 50 imersos em meio BD (pH 5,5) com (CQ) e sem quitosana (SQ), na presença de <i>P. oxalicum</i> durante 31 dias. ....	93
Figura 48. Medidas de DDP em corpos de prova de aço carbono CA 25 e concreto com e sem quitosana agregada ao concreto, imersos em meio nutriente (pH 6,5) na presença de <i>E. coli</i> em 31 dias. ....	94
Figura 49. Medidas de DDP em corpos de prova de aço carbono e concreto sem quitosana agregada ao concreto, imersos em meio nutriente (pH 6,5), na presença de <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i> em 30 dias. ....	94
Figura 50. Medidas de DDP em corpos de prova de aço e concreto com e sem quitosana agregada ao concreto imersos em meio nutriente (pH 6,5), na presença de <i>P. aeruginosa</i> por 30 dias. ....	95
Figura 51. Medidas de DDP em corpos de prova de aço carbono e concreto com quitosana agregada ao concreto, imersos em meio nutriente (pH 6,5), na presença de <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i> em 30 dias. ....	95
Figura 52. Medidas de DDP em corpos de prova de aço e concreto sem quitosana agregada ao concreto, imersos em meio BD (pH 5,5), na presença de fungos filamentosos durante 31 dias. ....	96
Figura 53. Medidas de DDP em corpos de prova de aço e concreto com quitosana agregada ao concreto, imersos em meio BD (pH 5,5), na presença de fungos filamentosos durante 31 dias. ....	97
Figura 54. Medidas de DDP em corpos de prova de aço e concreto com e sem quitosana com quitosana agregada ao concreto, imersos em meio BD (pH 5,5), na presença de <i>A. niger</i> . ....	97
Figura 55. Medidas de DDP em corpos de prova de aço e concreto com e sem quitosana, na presença de <i>F. solani</i> . ....	98
Figura 56. Medidas de DDP em corpos de prova de aço e concreto com e sem quitosana, na presença de <i>M. rouxii</i> . ....	98
Figura 57. Medidas de DDP em corpos de prova de aço e concreto com e sem quitosana, na presença de <i>P. oxalicum</i> . ....	99
Figura 58. Crescimento dos fungos filamentosos em meios teste dispostos na Tabela 3. (A) <i>M. rouxii</i> , (B) <i>F. solani</i> , (C) <i>P. oxalicum</i> e (D) <i>A. niger</i> . ....	112

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Efeito da adição de quitosana em diversos alimentos. ....	43
Tabela 2. Efeito do revestimento de quitosana formado na superfície de frutos e hortaliças imersas pós-colheita (a) em soluções ácidas de quitosana ou de frutos e plantas pulverizadas pré-colheita (b) com quitosana, inoculados com seus respectivos fungos fitopatogênico. ....	45
Tabela 3. Composição dos meios de cultura utilizados para teste de crescimento microbiano utilizando quitosana como única fonte de carbono.....	57
Tabela 4. Composição química do aço (Fe= bal.). ....	58
Tabela 5. Composição do traço utilizado na confecção dos corpos de prova de aço e concreto de acordo com Lisbôa (2011). ....	60
Tabela 6. Valores da perda de massa do aço CA 50 e cálculo da corrente de corrosão obtida, em diversos tratamentos, com 30 e 90 dias. ....	69
Tabela 7. Valores da perda de massa do aço CA 25 e cálculo da corrente de corrosão obtida em diversos tratamentos, com 90 dias. ....	71
Tabela 8. Valores da corrente de corrosão do aço CA 25 e CA 50 em meio AN, na ausência e presença das bactérias <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i> com 30 dias.....	78
Tabela 9. Testes de crescimento dos microrganismos em meio mínimo preparados de acordo com a Tabela 3. ....	112

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AN	Ágar nutriente
BD	Batata dextrose
BDA	Ágar batata dextrose
BRS	Bactérias redutoras de sulfato
CCT	Coleção de culturas tropicais
CN	Caldo nutriente
CQ	Com quitosana
DDP	Diferença de potencial
DNAr	Ácido desoxirribonucleico ribossômico
gcm <sup>-3</sup>	Grama por centímetro cúbico
INPI	Instituto Nacional da Propriedade Industrial
$j_{corr}$	Corrente de Corrosão
Kg	Quilograma
m/m	Massa/massa
m/v	Massa/volume
Máx.	Máximo
MEA	Malt Extract Agar
mg.mL <sup>-1</sup>	Miligrama por mililitro
MPE	Material polimérico extracelular
Q	Carga
QS	<i>Quorum sensing</i>
RBMG	Resíduos de mármore e granito
SQ	Sem quitosana
v/v	Volume/volume
B	Beta

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	20
<b>2.1</b>	<b>Objetivo Geral</b> .....	20
<b>2.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b> .....	20
<b>3</b>	<b>ESTADO DA ARTE</b> .....	21
<b>3.1</b>	<b>Corrosão e Biocorrosão</b> .....	21
3.1.1	Corrosão biológica Induzida por Microrganismos (Biocorrosão).....	26
<b>3.2</b>	<b>Caracterização dos microrganismos estudados</b> .....	31
3.2.1	Fungos filamentosos.....	31
3.2.2	Bactérias.....	37
<b>3.3</b>	<b>Quitosana</b> .....	40
3.3.1	Quitosana como inibidora do crescimento microbiano.....	42
3.3.2	Quitosana em concreto e como inibidora de corrosão.....	46
<b>3.4</b>	<b>Prospecção tecnológica</b> .....	48
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA DE PREPARO DE CORPOS DE PROVA E MANUTENÇÃO DE MICRORGANISMOS</b> .....	56
<b>4.1</b>	<b>Local de análise</b> .....	56
<b>4.2</b>	<b>Microrganismos utilizados</b> .....	56
<b>4.3</b>	<b>Preparo dos meios de cultura para manutenção microbiana</b> .....	56
<b>4.4</b>	<b>Preparo dos meios de cultura para o teste de consumo de quitosana pelos microrganismos</b> .....	57
<b>4.5</b>	<b>Preparo dos corpos de prova e eletrodos de aço</b> .....	58
<b>4.6</b>	<b>Preparo dos corpos de prova de aço imersos em concreto para medidas de DDP</b> .....	59
<b>4.7</b>	<b>Análise estatística</b> .....	63
<b>5</b>	<b>TESTES DE PERDA DE MASSA DO AÇO CA 25 E CA 50 E MEDIDAS DA CORRENTE DE CORROSÃO</b> .....	64
<b>5.1</b>	<b>Metodologia para os testes de perda de massa e cálculo da corrente de corrosão</b> .....	64
5.1.1	Perda de massa e cálculo da corrente de corrosão na ausência de microrganismos.....	65

5.1.2	Perda de massa e cálculo da corrente de corrosão em meio contendo bactérias.....	66
5.1.3	Perda de massa e cálculo da corrente de corrosão em meio contendo fungos.....	67
<b>5.2</b>	<b>Resultados para o teste de perda de massa e cálculo da corrente de corrosão.....</b>	<b>68</b>
5.1.1	Perda de massa e cálculo da corrente de corrosão na ausência de microrganismos.....	68
5.1.2	Perda de massa e cálculo da corrente de corrosão na presença de microrganismos.....	72
<b>6</b>	<b>MEDIDA DA DIFERENÇA DE POTENCIAL (DDP).....</b>	<b>87</b>
<b>6.1</b>	<b>Metodologia para as medidas da DDP em corpos de prova de aço imersos em concreto.....</b>	<b>87</b>
<b>6.2</b>	<b>Metodologia para as medidas da DDP em corpos de prova de aço CA 25 e CA 50.....</b>	<b>88</b>
<b>6.3</b>	<b>Resultados da Medida de Diferença de Potencial - DDP.....</b>	<b>89</b>
6.3.1	Medidas da DDP em corpos de prova de aço CA 25 e CA 50.....	89
6.3.2	Medidas da DDP em corpos de prova de aço imersos em concreto.....	93
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>100</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>101</b>
	<b>APÊNDICES.....</b>	<b>111</b>

# 1 INTRODUÇÃO

---

As peças de concreto armado utilizadas nas mais diversas aplicações, seja residencial, comercial ou industrial, estão sempre sujeitas à ação da corrosão. Este fato torna o estudo da corrosão, principalmente no que diz respeito ao seu controle, fundamental para preservar a vida útil dessas estruturas, além de minimizar gastos oriundos dos processos corrosivos relativos às inspeções, substituições e reparos das peças (SANTOS FILHO, 2010).

No caso da armadura de aço em concreto, a corrosão é sempre um processo destrutivo de natureza eletroquímica que ocorre como resultado da formação de pilhas ou células de corrosão em regiões diferentes de um mesmo metal, com eletrólito e diferença de potencial entre os trechos da superfície do aço. Resultados das avaliações técnicas realizadas em países ibero-americanos mostram que o dano devido à corrosão das armaduras está entre as três primeiras causas de deterioração das estruturas de concreto (RINCÓN, 2006).

Alguns autores destacam a importância do estudo do fenômeno em virtude do alto índice de problemas relacionados com a ocorrência da corrosão de armaduras no Brasil, onde grande parte das edificações está localizada na orla marítima, sujeita à ação da névoa salina com elevados teores de íons cloretos, elevadas umidade relativa e temperatura que são condições propícias para acelerar a cinética do processo corrosivo (CARMONA e MAREGA, 1988).

Apenas na região Sul do Brasil, uma análise detalhada de 1512 casos de diagnósticos com diferentes patologias realizado por Dal Molin mostrou que a incidência de corrosão no reforço representa 40% do dano total (RINCÓN, 2006). Dentre as patologias das estruturas de concreto armado, a corrosão das armaduras provocada por carbonatação ou por difusão de cloretos já vem sendo bastante pesquisada.

A corrosão de armaduras do concreto é um problema que causa prejuízos incalculáveis e custos excessivos de recuperação, justificando a união de esforços para a minimização do problema, minimizando gastos inerentes à recuperação estrutural de peças de concreto, que tem um custo elevado, pois além do reparo na estrutura, envolve também interdição do local, transferência de atividades, risco às pessoas, materiais e equipamentos (UCHÔA, 2007).

A multiplicação de microrganismos, em especial fungos e bactérias, também favorece a uma das formas de corrosão bem pouco conhecida da comunidade técnica, que é a *biocorrosão*, *corrosão microbiológica* ou *corrosão microbiologicamente induzida*.

Todo tipo de concreto está sujeito a biocorrosão e isto ocorre em qualquer área de aplicação, em construções das mais diversas, como pontes, monumentos etc, porém, este problema se intensifica em sistemas de esgotos e efluentes em geral. Um exemplo de sistema que precisou de recuperação foi o Emissário Submarino de Maceió, cujos reparos ocorreram entre os anos de 2000 e 2001, tanto na armadura metálica quanto no revestimento de concreto (ALMEIDA, 2004 *apud* UCHÔA, 2007).

Segundo Shirakawa (1994) a natureza eletroquímica da corrosão metálica do aço continua presente na corrosão microbiológica. Assim, tem-se um processo anódico de dissolução metálica do aço e um processo catódico complementar, o qual, dependendo das características do meio (pH, aeração, composição química etc.), ocorrerá por reações catódicas do tipo redução de oxigênio, por exemplo, em meio aerado e pH tendendo para neutro ou do tipo em que há evolução do hidrogênio.

A ação dos microrganismos está intimamente ligada com a produção de substâncias corrosivas, originárias de seu metabolismo, as quais podem ser de natureza química diversa, como álcalis, ácidos, sulfetos etc, no microambiente em que se encontra imobilizado. Estas substâncias transformam o meio originalmente inerte em agressivo. Os microrganismos também originam pilhas de aeração diferencial por efeito de um consumo desigual de oxigênio, como é o caso dos tubérculos encontrados na corrosão de canos de ferro ou em tanques de alumínio ou de suas ligas (VIDELA, 1993).

Em ambientes aeróbios o oxigênio é o acceptor de elétrons, formando óxidos e hidróxidos do metal. Quando o ambiente apresenta potencial de oxi-redução

suficientemente catódico, os prótons tornam-se aceptores de elétrons, produzindo gases e outros produtos altamente reduzidos (FORD, 1990), já em ambiente anaeróbio acredita-se que bactérias redutoras de sulfato possam influenciar o processo diretamente, pelo consumo de hidrogênio catódico (despolarização catódica), ou indiretamente por produção de sulfeto como produto final de seu metabolismo (SHIRAKAWA, 1994).

A diferença fundamental entre os processos de corrosão inorgânicos e microbiológicos consiste no fato de que os microrganismos induzem e mantêm o gradiente de concentração de oxigênio e outros insumos vitais por um processo biológico (ex. respiração). Esse gradiente acelera ativamente a reação da corrosão por via catódica, enquanto a respiração estiver ativa (VIDELA, 1993).

Vários são os microrganismos comumente envolvidos no processo de corrosão. Gentil (2008), os classifica em quatro grupos:

1. Bactérias redutoras de sulfato;
2. Bactérias formadoras de limo;
3. Bactérias oxidadoras de ferro; e
4. Grupo variado, contendo bactérias, fungos e algas.

Mesmo sendo colocadas dentro de um grupo variado e sem classificação própria, as Enterobactérias, os microrganismos dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* e diversas espécies de fungos pertencentes aos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* e *Fusarium* também apresentam importância significativa nos processos corrosivos.

Durante a formação de biofilmes, estas bactérias, sendo aeróbicas ou anaeróbicas facultativas são características por colonizar o ambiente na fase inicial, sendo responsáveis pela alteração da superfície e criação de um ambiente favorável à adesão de outros microrganismos em fases posteriores, através da excreção de material polimérico extracelular (MPE). Muitos microrganismos, patogênicos ou não, podem participar destes processos de adesão, podendo citar: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas fluorescens*, *Micrococcus* sp, *Enterococcus faecium*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella thyphimurium*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* (SURMAN et al, 1996; SMITH e FRATÂMICO, 1995; MARAGONI, 2010).

Os fungos são microrganismos eucariotos, capazes de crescer sobre todos os substratos e ambientes, desde rochas, superfícies metálicas e até sobre e no interior de diversas espécies de plantas. Muitos são capazes de metabolizar compostos orgânicos como madeira, tinta, papel e polímeros de borracha, produzindo solventes orgânicos como ácidos e álcoois que favorecem a biocorrosão (GÖRS et al., 2007).

No que diz respeito à corrosão microbiológica, é de extrema importância conhecer quão ativa é a influência dos microrganismos nos processos de corrosão de armaduras metálicas suscetíveis ao seu ataque e qual a efetiva contribuição de biopolímeros na inibição da corrosão.

Diversas alternativas têm sido empregadas na tentativa de minimizar ou mesmo impedir a corrosão do concreto. O uso de biopolímeros como a quitosana, de acordo com Santos Filho (2010) demonstrou eficácia no controle da corrosão provocada por difusão de cloretos em sistema simulando concreto. Do ponto de vista da engenharia a proposta mostrou-se tão viável que resultou na deposição de uma patente (BR201003149-A2) acerca de uma composição aditiva ao concreto com vistas à inibição de corrosão da estrutura metálica pelo viés da criação de filmes distribuídos de quitosana que impediam a difusão de cloreto. Porém não foram avaliados os aspectos da inserção da quitosana quanto ao estímulo do ataque biológico ao concreto e a estrutura metálica.

Tem, portanto, este trabalho o propósito de contribuir na elucidação de possíveis efeitos corrosivos ao aço carbono, causado por microrganismos, quando da adição de quitosana em concreto e em meio de concreto simulado.

## 2 OBJETIVOS

---

### 2.1 Objetivo Geral

Estudar o efeito da adição de quitosana na corrosão microbiológica do aço carbono CA-50 e CA-25 em solução e em concreto.

### 2.2 Objetivos Específicos

**2.2.1** Avaliar o efeito protetivo da quitosana na corrosão direta de aço carbono (CA 50 e CA 25) na presença de cloretos;

**2.2.2** Avaliar o efeito das bactérias *E.coli* e *P. aeruginosa* na corrosão direta do aço carbono (CA 50 e CA 25) em solução (meio de cultura) com e sem adição da quitosana;

**2.2.3** Avaliar o efeito dos fungos *M. rouxii*, *F. solani*, *A. niger*, e *P. oxalicum* na corrosão direta de aço carbono (CA 50 e CA25) e meio de cultura com e sem adição da quitosana;

**2.2.4** Avaliar o efeito das bactérias *E.coli* e *P. aeruginosa* na corrosão do aço carbono (CA 50 e CA 25) em peças de concreto (corpos de prova) na presença e ausência da quitosana agregada ao traço do concreto;

**2.2.5** Avaliar o efeito dos fungos *M. rouxii*, *F. solani*, *A. niger*, e *P. oxalicum* na corrosão do aço carbono (CA 50 e CA 25) em peças de concreto (corpos de prova) na presença e ausência da quitosana agregada ao traço do concreto.

## 3 ESTADO DA ARTE

---

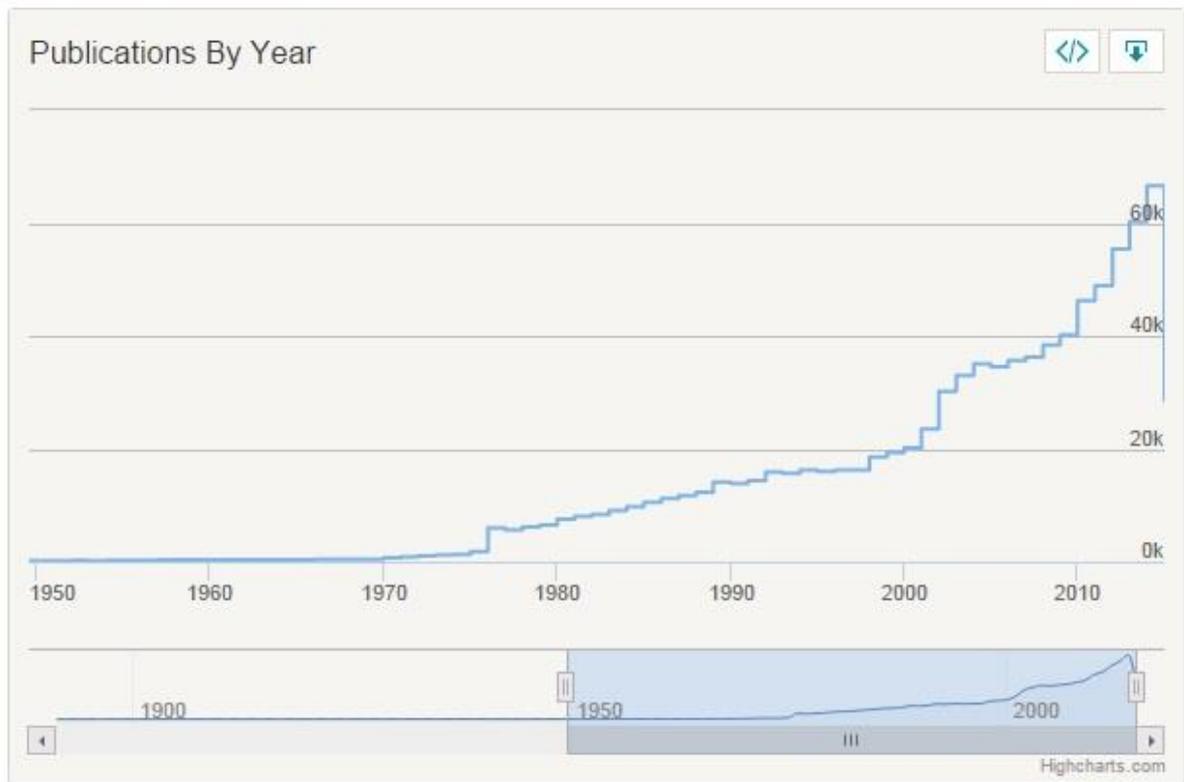
### 3.1 Corrosão e Biocorrosão

De acordo com Gentil (2008), o termo corrosão é usado para designar o processo de deterioração de um material, geralmente metálico, por ação química ou eletroquímica do meio ambiente associada ou não a esforços mecânicos.

De acordo com a etimologia da palavra corrosão, temos o significado derivado do latim “*corrodere*”, que significa destruir. Cientificamente, este termo tem sido empregado para designar a destruição total, parcial ou superficial de materiais por ataque eletroquímico, químico ou eletrolítico (MERÇON et al., 2004). A deterioração de materiais não metálicos como deterioração do cimento Portland por ação de sulfatos, perda de elasticidade da borracha devido à oxidação por ozônio ou até a perda de resistência da madeira exposta ao ataque ácido também podem ser admitidos como corrosão.

A importância econômica do tema *corrosão* pode ser rapidamente elucidada a partir do montante de tecnologias desenvolvidas no âmbito dessa problemática nos últimos anos. A Figura 1, apresenta o número de produtos ou soluções tecnológicas apuradas para o tema *corrosion* na base de busca Lens ([www.lens.org](http://www.lens.org)). Observa-se que o grande impulso na geração de soluções tecnológicas relativas à corrosão ocorre no meio da década de 70, provavelmente induzido pela crise do petróleo. Atualmente são publicados anualmente mais de 60 mil artigos, trabalhos ou patentes sobre o tema, ratificando sua importância.

Figura 1. Publicações tecnológicas acerca do tema corrosão por ano.



Fonte: [www.lens.org](http://www.lens.org), acesso em 31 de julho de 2015.

Os processos de corrosão eletroquímica são mais frequentes na natureza, perfazendo 90% dos casos (WOLYNEC, 2003), e se caracterizam basicamente por:

- Necessidade da presença de água no estado líquido;
- Temperaturas abaixo do ponto de orvalho da água, sendo a grande maioria na temperatura ambiente;
- Formação de uma pilha ou célula de corrosão, com a circulação de elétrons na superfície metálica.

Desta forma, variadas técnicas eletroquímicas são utilizadas na investigação, na avaliação e no controle de processos corrosivos de metais.

Os processos de corrosão química são, por vezes, denominados corrosão ou oxidação em altas temperaturas. Estes processos são menos frequentes na natureza, envolvendo operações onde as temperaturas são elevadas (PIMENTA, 2014).

Tais processos corrosivos se caracterizam basicamente por:

- ausência da água líquida;
- temperaturas, em geral, elevadas, sempre acima do ponto de orvalho da água;
- interação direta entre o metal e o meio corrosivo.

Nos processos de corrosão, os metais reagem com os elementos não metálicos presentes no meio,  $O_2$ , S,  $H_2S$ ,  $CO_2$  entre outros, produzindo compostos semelhantes aos encontrados na natureza, dos quais foram extraídos, portanto, nestes casos a corrosão corresponde ao inverso dos processos metalúrgicos (PIMENTA, 2014). A Figura 2 demonstra de forma genérica o processo de corrosão, evidenciando a tendência de que o sistema atinja um estado global de menor energia, quase sempre caracterizado pela formação de óxidos metálicos.

Figura 2. Ciclo dos Metais.

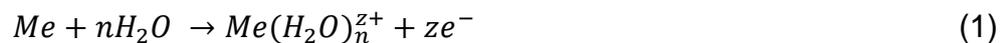


Fonte: Pimenta, 2014.

Os processos reacionais que geram a corrosão são geralmente espontâneos e transformam constantemente as características físicas e químicas de materiais metálicos e não-metálicos, interferindo conseqüentemente, em sua estrutura, durabilidade e desempenho (ROSSI, 2007). Podemos ainda destacar que os processos corrosivos podem acontecer de duas formas distintas: a corrosão inorgânica ou a corrosão biológica.

Nos processos corrosivos que ocorrem espontaneamente nas superfícies dos materiais metálicos e são provenientes de reações de oxidação de caráter eletroquímico (que consistem na transferência de elétrons), o material metálico é o agente redutor (cede elétrons) que sofre ação de agentes oxidantes (GENTIL, 2008).

A equação 1 mostra a reação química que ocorre durante o processo de dissolução de um metal, que gera o óxido metálico.

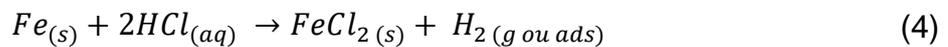
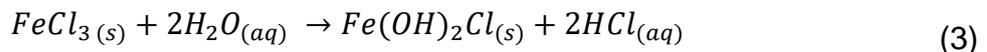
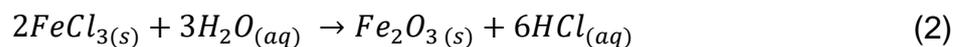


De acordo com a aparência da superfície metálica ou da forma de ataque de oxidantes em geral e seus mecanismos de ação, Gentil (2008) e Panoni (2004) classificaram os diferentes tipos ou formas de corrosão como morfológica, mecânica ou localizada, a saber:

- A Corrosão Morfológica pode ser desencadeada por um processo uniforme, por placas, alveolar, puntiforme, intergranular, intragranular, filiforme, por esfoliação, grafítica, deszinificação, em torno do cordão de solda e fragilização por hidrogênio.
- A Corrosão Mecânica se processa por aeração diferencial ou eletrolítica (corrente de fuga) associada à solicitação de esforços mecânicos, ou corrosão sob tensão fraturante em torno de cordão de solda, seletiva (grafítica e deszinificação), por empolamento ou fragilização pelo hidrogênio.
- A Corrosão Localizada ocorre frequentemente dentro de fendas e em outras áreas da superfície exposta a meios corrosivos. Os tipos de ataques estão normalmente associados a pequenos volumes de solução que ficam estagnados em pontos específicos dos materiais.

O meio é um fator muito importante para o desenvolvimento da corrosão. Pode-se destacar como meios a atmosfera, as águas naturais, o solo e produtos químicos e a natureza do material utilizado (GENTIL, 2008).

A atmosfera é o meio mais comum de corrosão que ocorre à temperatura ambiente, desencadeado pela umidade da atmosfera juntamente com as substâncias presentes em sua composição, como poluentes ou até mesmo NaCl, no caso de atmosfera marinha (Equações 2, 3 e 4). No caso do material metálico, esta umidade se condensa em forma de película líquida e, combinada aos óxidos de enxofre (SO<sub>x</sub>), compostos nitrogenados (NH<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S), monóxido e dióxido de carbono (CO e CO<sub>2</sub>), geram um meio corrosivo (ROSSI, 2007). A mesma autora ainda observou que em ambientes secos ou de umidade relativamente baixa, não ocorre corrosão atmosférica.



Porém, a ação corrosiva da atmosfera também depende de fatores como clima, temperatura, umidade relativa do ar, frequência de chuva e o seu pH, velocidade dos ventos, ponto de orvalho, irradiação de luz e o tempo de permanência do filme eletrolítico na superfície metálica (ROSSI, 2007; GENTIL, 2008)

As águas naturais em contato com o substrato metálico também constituem um ótimo meio de corrosão. Agregados metálicos, que se formam pela ação de íons metálicos sob influência de moléculas de água ocasionam esta corrosão. A presença de alguns contaminantes, tais como: gases e sais dissolvidos, matéria orgânica de origem animal e vegetal, bactérias, limos, algas e sólidos em suspensão facilitam esse processo (ROSSI, 2007; GENTIL, 2008). Também deve-se levar em conta os fatores acima mencionados (temperatura, tempo, pH etc).

Com o avanço dos processos de corrosão, microrganismos ligados ou os seus sub-produtos metabólicos podem ser descartados para a fase aquosa, alterando a qualidade da água.

Dentre as águas naturais, a água do mar pode ser considerada uma das mais corrosivas, pois concentrações elevadas de sais (principalmente de cloretos) funcionam como um eletrólito forte, promovendo rápido processo eletroquímico de corrosão (VIDELA, 2003; GENTIL, 2008).

Já o solo pode ser considerado como um dos meios corrosivos mais complexos para se determinar previamente sua ação agressiva para materiais metálicos. Essa complexidade fica evidenciada na tomada de amostras de solo para análise físico-química (ROSSI, 2007). Adicionalmente, a coleta de amostras provoca alterações que poderão influenciar as condições físicas, provocando valores analíticos que não correspondem à realidade do solo (GENTIL, 2008).

Os fatores mais importantes que influenciam na velocidade de corrosão de solo, estão diretamente ligados à natureza do solo como porosidade (aeração), condutividade elétrica, sais dissolvidos (incluindo despolarizantes ou inibidores), umidade, corrente elétricas de fuga, pH e microbiota naturalmente presente. No solo a variação na composição ou estrutura do material metálico é pouco significativa (ROSSI, 2007).

Os microrganismos existentes no solo podem destruir os revestimentos de proteção aplicados nos materiais, facilitando o processo de corrosão. O solo, entretanto, pode não ser homogêneo, fornecendo diferenciais eletroquímicos (pilhas de corrosão), por exemplo: corrosão por aeração diferencial em tubulações enterradas (BENTO e GAYLARD, 2001; VIDELA, 2003).

### **3.1.1 Corrosão Biológica Induzida por Microrganismos (Biocorrosão)**

Os microrganismos podem ser encontrados nos mais diversos ambientes, tanto na água, no ar ou solo, sendo carregados de maneira natural como, por exemplo, pelas correntes de ar que os levam de continente para continente.

Pode-se destacar a importância dos microrganismos tanto na área ecológica e da saúde, como na área econômica e estima-se que a massa total de células

microbianas na terra é de aproximadamente 25 vezes o total da massa animal e, apesar de sua grande abundância, poucas são as espécies que causam doenças ao homem (PELCZAR *et. al.*,1997).

Características ligadas ao seu comportamento (por exemplo, a formação de biofilmes) e a produção de substâncias oriundas de seu metabolismo vem sendo um problema cada vez mais percebido e estudado ao longo dos anos, pois apesar de seu reduzido tamanho, os microrganismos participam ativamente de diversos ciclos de elementos na natureza, atuando como agentes decompositores ou degradativos.

Danos causados a cultivos destinados ao consumo e à ornamentação, à saúde humana e animal, à indústria de alimentos, de petróleo e gás, de tintas, papel, tecidos e, em especial, à construção civil tem sido alvo de preocupação nos dias atuais.

A biocorrosão foi descrita pela primeira vez por Garret, no final do século XIX num estudo sobre a corrosão do chumbo na presença de amoníaco, nitratos e nitritos produzidos por bactérias (VIDELA, 1993)

Videla (2003) relaciona os seguintes mecanismos de biocorrosão de acordo com as características do crescimento e metabolismo de microrganismos procarióticos e eucarióticos:

- Produção de metabólitos ácidos;
- Indução de pites nas zonas de aderência celular, por acidificação localizada;
- Produção de metabólitos capazes de causar a ruptura de filmes protetores sobre o metal, inclusive camadas de óxidos;
- Aumento do potencial redox do meio, criando condições favoráveis para a reação de corrosão;
- Formação de células de aeração diferencial por meio de uma distribuição não homogênea dos depósitos biológicos (formação de biofilmes);
- Ataque seletivo de áreas soldadas ou adjacências;
- Consumo metabólico de inibidores de corrosão;
- Biodegradação de coberturas protetoras.

Da mesma forma que na corrosão inorgânica, também se tem a origem de uma região anaeróbia sob a colônia microbiana, devido ao consumo de oxigênio para sua

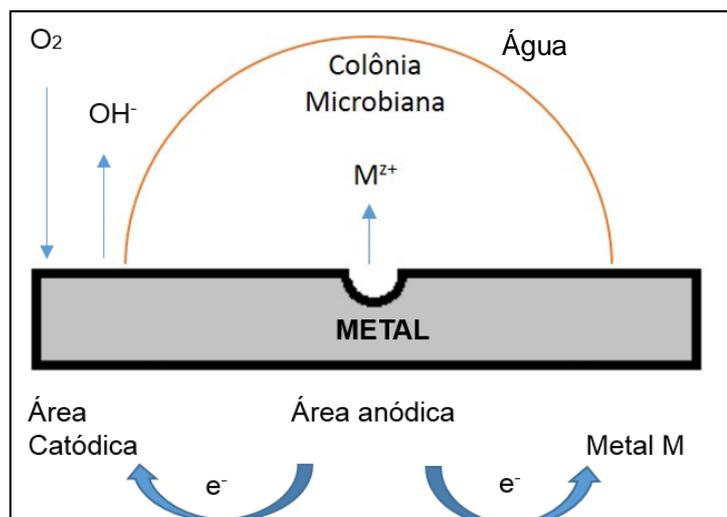
respiração (tratando-se de microrganismos aeróbios), e também uma outra região mais oxigenada na parte externa da colônia em contato com o meio líquido aerado (VIDELA, 2003).

A reação catódica é a mesma da corrosão inorgânica, não existindo mudanças na natureza eletroquímica dos processos, mas a diferença fundamental é que os microrganismos induzem e mantêm o gradiente de concentração de oxigênio por um processo biológico, que acelera a reação de corrosão por via catódica. (VINCKE, *et al.*, 2001; AVIAM, *et al.*, 2004).

O consumo de elétrons varia dependendo do potencial de oxi-redução da superfície. Em ambientes aeróbios o oxigênio é o acceptor de elétrons, formando óxidos e hidróxidos do metal. Quando o ambiente apresenta potencial de oxi-redução baixo, os prótons tornam-se aceptores de elétrons, produzindo gases e outros produtos altamente reduzidos (FORD & MITCHELL, 1990) (Figura 3).

A corrosão de metais em ambientes anaeróbios tem sido amplamente estudada, sendo as bactérias redutoras de sulfato, normalmente pertencentes ao gênero *Desulfovibrio*, os principais microrganismos representantes neste processo onde o sulfato é o acceptor de elétrons e o metal atacado o doador de elétrons (KIM *et al.*, 2015).

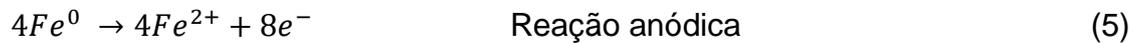
Figura 3. Esquema da corrosão microbiológica de uma barra de ferro sob uma colônia microbiana.



Fonte: Adaptado de Videla, 2003.

Pankhania (1988) afirma que os produtos de corrosão na presença destas bactérias são o sulfeto de ferro e o hidróxido de ferro II. As bactérias redutoras de sulfato são identificadas como os microrganismos mais comumente responsáveis pelo processo de corrosão sob condições anaeróbias, atribuindo-se a elas diretamente, o consumo de hidrogênio catódico (despolarização catódica), ou indiretamente, a produção de sulfeto como produto final de seu metabolismo (KIM et al., 2015).

As reações descritas a seguir (5 a 10) resumizam o mecanismo da corrosão anaeróbia do ferro:



### 3.1.1.1 Biocorrosão do concreto

A corrosão microbiana do concreto é um problema significativo, com os custos de reparação de bilhões de dólares por ano (SANCHEZ-SILVA e ROSOWSKY, 2008).

Uma grande diversidade de microrganismos está envolvida neste processo, principalmente pela formação de biofilmes, resultando no *biofouling*. Um biofilme é constituído por células imobilizadas sobre um substrato, incluídas em uma matriz orgânica de polímeros extracelulares produzida por microrganismos e genericamente denominada material polimérico extracelular (MPE) (MARANGONI, 2010). O termo *biofouling*, refere-se ao acúmulo indesejável de depósitos biológicos sobre uma superfície, esse depósito podendo conter microrganismos e/ou macrorganismos (HEITZ et al., 1996).

O comportamento das bactérias sésseis é diferente daquele apresentado por bactérias de vida livre e das cultivadas em meios seletivos de isolamento. O metabolismo bacteriano é diferenciado devido à presença de outros microrganismos e da nova condição adotada (fixação em superfície).

Os principais grupos microrganismos responsáveis pela corrosão são as bactérias redutoras de sulfato (BRS), as Bactérias oxidantes do ferro e Bactérias oxidantes do enxofre, do gênero *Thiobacillus* (MARANGONI, 2010). Esses grupos de microrganismos são os mais estudados no quesito corrosão e já possuem seu mecanismo de corrosão elucidado e bem descrito na literatura.

Porém outros grupos de microrganismos também apresentam importância significativa, sendo composto pelas Enterobactérias e pelos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas*.

Durante a formação de biofilmes, as bactérias aeróbicas e anaeróbicas facultativas possuem a característica de colonizarem o ambiente na fase inicial, sendo responsáveis pela alteração da superfície e criação de um ambiente favorável à adesão de outros microrganismos em fases posteriores, através da excreção de MPE. Muitos microrganismos, patogênicos ou não, podem participar destes processos de adesão, podendo citar: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas fluorescens*, *Micrococcus* sp, *Enterococcus faecium*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella thyphimurium*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus*

*aureus* e *Bacillus cereus* (SURMAN et al., 1996; SMITH e FRATÂMICO, 1995; MARAGONI, 2010).

De acordo com Maragoni (2010) algumas destas bactérias podem não causar problemas quando estão livres, mas a formação de um biofilme as aproxima e permite que a secreção de um sinal molecular potencialize os efeitos do metabolismo destas, podendo influenciar na corrosão de superfícies metálicas. *Pseudomonas aeruginosa* é um exemplo de microrganismo que tem sua virulência aumentada quando está associado a um biofilme e este fator está diretamente ligado a sinais moleculares conhecidos como *Quorum sensing* (QS), um tipo de comunicação célula - célula geradora de fatores de agregação (KIEVIT, 2009).

Os fungos são microrganismos eucariotos, capazes de crescer sobre todos os substratos e ambientes, desde rochas, superfícies metálicas, e até sobre e no interior de diversas espécies de plantas. Muitos são capazes de metabolizar compostos orgânicos como madeira, tinta, papel e polímeros de borracha, produzindo solventes orgânicos como ácidos e álcoois que favorecem a biocorrosão. (GÖRS et al., 2007).

## **3.2 Caracterização dos microrganismos estudados.**

O estudo foi desenvolvido com representantes de dois reinos distintos, classificados como Reino Fungi e Reino Monera, sendo representados pelos fungos filamentosos e por bactérias, respectivamente.

### **3.2.1 Fungos filamentosos**

#### **3.2.1.1 *Penicillium oxalicum* Currie & Thom 1915.**

Os fungos do gênero *Penicillium* são bem conhecidos e compõe o grupo dos fungos filamentosos mais comuns, tendo ampla distribuição mundial, ocorrendo em uma grande variedade de habitats, como solo, vegetação, ar, construções e vários produtos alimentares (MONTEIRO, 2012; VISAGIE et al. 2014).

São microrganismos pertencentes ao Reino Fungi, Filo Ascomycota, classe Eurotomyces a ordem Eurotiales e pertencentes à família Trichocomanaceae, gênero *Penicillium*, com sua fase teleomófica pertencente aos gêneros *Eupenicillium* ou *Talalomyces*.

Sua principal função na natureza é a decomposição de compostos orgânicos, sendo assim as espécies podem causar podridão pós-colheita nas culturas alimentares (SAMSON, 2010), bem como a produção de uma diversificada variedade de micotoxinas (FRISVAD et al., 2004). Algumas espécies também têm impactos positivos. As espécies pertencentes a esse gênero têm sido utilizadas como modelo em estudos básicos, porém muitas pesquisas aplicadas têm demonstrado o seu enorme potencial biotecnológico como o uso no biocontrole, micoparasitismo e utilização de seus metabólitos secundários para diversas indústrias, como a indústria de alimentos onde algumas espécies são utilizadas para a produção de queijos e fermentados salsichas. Também são fontes de enzimas de interesse industrial e novos fármacos para a indústria farmacêutica (PALLU, 2010; VISAGIE et al. 2014). Vale a pena citar a descoberta da penicilina por Alexander Fleming em 1929, que revolucionou o tratamento de doenças bacterianas (PELCZAR et. al.,1997).

Com base nas características culturais e morfológicas, principalmente no que diz respeito aos arranjos dos conidióforos e conídios, o gênero *Penicillium* foi dividido em quatro subgêneros *Aspergilloides*, *Penicillium*, *Biverticillium* e *Furcatum*, sendo *P. oxalicum* pertencente ao subgênero *Aspergilloides* (PITT e HOCKING, 2009).

*P. oxalicum* (anteriormente classificado como *Penicillium decumbens*) é um fungo produtor de enzimas lignocelulolíticas. Este fungo foi originalmente isolado a partir do solo coberto de palha deteriorado em 1979 (LIU et al., 2013). É um fungo cosmopolita, que habita ambientes terrestres e aquáticos, sendo inclusive, isolado em amostras de alga marinha do gênero *Caulerpa* (ROMMINGER, 2013).

Possui crescimento rápido, suas colônias são pulverulentas, apresentam coloração verde escuro, com fundo de cor creme ou amarelada em meio BDA. Em meio Czapek esta espécie apresenta crescimento moderado, com micélio branco levemente flocoso no centro e fundo marrom amarelado (TIWARI et. al., 2011).

Estudos feitos por Larena et. al. (2003) e Sabuquillo et. al. (2006) demonstram que *P. oxalicum* é um poderoso micoparasita, utilizado no controle de vários fitopatógenos como *Nigrospora oryzae* (em culturas de arroz), *Fusarium oxysporum* e *Verticillium dahliae* (em tomateiros).

Além da colonização de matéria orgânica, *P. oxalicum* foi isolado em sistemas de tratamento de água, não só nas estações de captação, mas na água tratada e em tubérculos de corrosão (EMDE et al., 1992).

Giannantonio et. al. (2009) relatam seu isolamento em superfícies de concreto e argamassa.

### **3.2.1.2 *Aspergillus niger* Tiegh. 1867.**

Poucos fungos são tão importantes quanto os membros do gênero *Aspergillus*. São capazes de colonizar uma vasta variedade de substratos, considerados cosmopolitas, e amplamente distribuído na natureza, sendo isolados principalmente em solos e em plantas. O gênero possui uma abundância maior nas regiões de climas tropicais e subtropicais (KLICH, 2002; PITT e HOCKING, 2009) e apresentam grande importância econômica. Algumas espécies são responsáveis pela deterioração de alimentos e produção de micotoxinas. As micotoxinas são produtos do metabolismo secundário de algumas espécies de fungos que, quando ingeridas por animais, incluindo o homem, podem causar alterações prejudiciais à saúde.

Atualmente o gênero *Aspergillus* compreende mais de 260 espécies, sendo descrito pela primeira vez em 1729 pelo padre italiano e biólogo Pietro Antônio Micheli (MONTEIRO, 2012). Observando o fungo no microscópio, Micheli lembrou-se da forma de um aspergillum (borrifador de água benta), e nomeou a espécie de acordo com o objeto (ANDRADE e LIMA, 2010).

Em relação à morfologia, as colônias apresentam uma ampla variação na coloração, sendo então principal característica macroscópica utilizada para classificação. Podem ser encontradas colônias com colorações em tons de verde, amarelo, cinza, marrons, preto e branco (KLICH, 2002)

Da mesma forma que o gênero *Penicillium* pertencem ao Reino Fungi, Filo Ascomycota, classe Eurotomyces a ordem Eurotiales e família Trichocomanaceae. Espécies pertencentes ao gênero *Aspergillus* podem ser divididas em seções: Flavi, Circumdati, Nigri, Restricti, Fumigati, Cervini, Clavati, Nidulantes, Flavipedes, Versicolores, Usti, Terrei, Candidi, Cremei, Sparsi e Wentii. As espécies mais comumente estudadas pertencem às seções Circumdati, Flavi e Nigri, são economicamente importantes (KLICH, 2002; VARGA et al., 2004).

O fungo *Aspergillus niger* têm uma grande importância na indústria farmacêutica e de alimentos, pois é responsável pela produção de vários compostos de grande interesse biotecnológico, principalmente de ácidos orgânicos como o ácido cítrico e o ácido glucônico. (ABARCA et al., 2004, REYES-OCAMPO, 2013). Além da produção de ácidos orgânicos, *A. niger* é também um importante produtor de enzimas como pectinase, protease, amiloglucosidase, catalase e glucosidase (SILVA, 2009). Sua rede metabólica é bem conhecida e é constituída por 1190 reações e produção de 1045 metabólitos, distribuídos em três compartimentos: mitocondrial, extracelular e citoplasmático (ANDERSEN et al., 2008).

Seu crescimento é rápido e a morfologia de suas colônias em meio Czapek apresenta cor preta para marrom escuro e fundo incolor para amarelo claro. Já em MEA as colônias são pretas, com fundo incolor. Também se caracterizam por apresentar conídios de coloração marrom-escuros a negros, com estruturas dos conidióforos unisseriadas ou bisseriadas, vesículas esféricas e hifas hialinas ou levemente pigmentadas próximo ao ápice (SILVA, 2009). Esta espécie requer uma série de íons para seu metabolismo como de ferro, cobre, zinco, manganês, molibdênio, boro, vanádio, gálio e escândio (JUZELIŪNAS et al., 2005), sendo conhecido como fungo redutor de ferro (EMDE et al., 1992).

Fungos deste gênero foram isolados de tanques de turbocombustíveis e estão associados à corrosividade (VIDELA, 2003).

De acordo com Ramanauska et al. (2005), *A. niger* e *Paecilomyces parvus* foram isolados a partir de metais (Al, Cu, Zn) e amostras de aço expostas a diferentes condições atmosféricas e em amostras com diferentes níveis de corrosão onde *A. niger* foi a mais prevalente nesse estudo e sua ocorrência foi relacionada com a produção de ácido cítrico e substâncias poliméricas geralmente extracelulares

envolvidos na corrosão do metal (JUZELIŪNAS et al., 2005; JUZELIŪNAS et al., 2007).

Sette et al. (2010) identificaram *A. niger* em torres de transmissão de energia elétrica de alumínio com sinais de corrosão, no estado de São Paulo.

### **3.2.1.3 *Fusarium solani* (Mart.) Sacc 1881.**

O gênero *Fusarium* é composto por uma grande e heterogênea variedade de espécies de grande importância para a indústria alimentar e farmacêutica, como também para a medicina e agricultura (ZACCARDELLI et. al., 2008). Sua posição taxonômica, apesar de complexa devido aos critérios morfológicos, sexuais e moleculares divergentes é definida atualmente como pertencente ao Reino Fungi, Filo Ascomycota, Classe Sordariomycetes, Ordem Hypocreales, Família Nectriaceae, Gênero *Fusarium* (QUERALES, 2010; INDEX FUGORUM, 2015).

Os representantes deste gênero habitam o solo, atuam como fitopatógenos, causando uma série de lesões nas plantas afetadas e também são agentes de micoses no homem: *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. proliferatum*, *F. chladosporum*, *F. roseum* (*F. concocolor*), *F. equiseti*, *F. semitectum*, *F. anthophilum*, *F. graminearum*, entre outras (TRABULSI et. al., 1999). Também se destacam como um dos mais importantes em termos de perdas globais devido às micotoxicoses, isso se deve ao fato desse gênero ter a capacidade de produzir uma variedade de micotoxinas, sendo as mais importantes os tricotecenos (vomitoxina e T-2 entre outras), as fumonisinas, a zearalenona, a moniliformina e o ácido fusárico (SANTIN et. al., 2001).

As culturas de *Fusarium* spp se caracterizam pelo crescimento rápido da colônia, com micélio branco, aveludado a levemente cotonoso, opacos ou levemente brilhantes. Incubado a 25°C por sete a dez dias, o fungo pode apresentar pigmentação do micélio que varia de cor rosa, púrpura, cinza ou amarela em meio de cultivo BDA. A característica micromorfológica principal deste gênero é a forma de foice de seus conídios. Eles emergem de células conidiogênicas (fiálides) e podem apresentar-se isoladamente ou agrupados em massas crescendo diretamente do micélio (LEAL et. al., 2009).

Os estudos moleculares tiveram um forte impacto sobre a taxonomia de *F. solani*, o que dividiu a espécie em variedades de acordo com testes de variedades de hospedeiros. A partir de testes de DNA foram obtidas de 50 subespécies. (ZACCARDELLI et. al., 2008)

Este fungo apresenta micélio aéreo filamentoso, denso e cotonoso, formado de hifas ramificadas, septadas; dois tipos de conídios: macro e microconídios e estruturas assexuadas de resistência, os clamidósporos. Quando presentes, os clamidósporos podem ser terminais, intercalados, isolados ou em cadeias. Nos conídios fusiformes são produzidos esporodóquios (Tuberculiriaceae) (GUIMARÃES, 2010). Tem como sinonímia, *Fusisporum solani* Mart. e sua forma teleomórfica corresponde a *Nectria haematococca* Berk & Br, um ascomiceto que produz peritécios, no interior dos quais se formam os ascos (INDEX FUGORUM, 2015).

O fungo *F. solani* pertence a um importante grupo de fungos que causam danos no sistema radicular em plantas cultivadas pelo mundo. Ele é fungo fitopatogênico que causa várias doenças em determinadas culturas como apodrecimento do caule de ervilha, síndrome da morte súbita da soja, podridão do pé de feijão e podridão seca de batata (LUGINBUHL, 2010) e também está associado à corrosividade (VIDELA, 2003).

*F. solani* foi identificado em torres de transmissão de energia elétrica com sinais de corrosão no estado São Paulo, juntamente com mais nove espécies de fungos filamentosos e 21 leveduriformes (SETTE et al., 2010).

#### **3.2.1.4 *Mucor rouxii* (Calmette) Wehmer 1900.**

Os fungos deste gênero pertencem a divisão Zygomycota, classe Zygomycetes, ordem Mucorales, família Mucoraceae, possuindo o gênero *Mucor*, mais de 80 espécies cosmopolitas (ALVES et. al., 2002), com as mais diversas aplicações, dentre as mais recentes, a produção de etanol e quitosana (CHATTERJEE et. al., 2005; JAY, 2005; SILVA, 2013) Sinonímia: *Amylomyces rouxii*.

Sua morfologia descreve hifas não septadas, que originam esporangiósforos com columelas que portam um esporângio na região terminal. Não possuem rizoides nem esporões e suas colônias são aveludadas, de coloração amarronzada/

esverdeada (JAY, 2005). A maioria das espécies de *Mucor* vive como sapróbia no solo, grãos, flores, frutos, restos de vegetais, agáricos carnosos, fezes de herbívoros e solo afetado por fezes de aves (VIRIATO 1996; SCHOENLEIN-CRUSIUS et al. 1997). No entanto, o gênero *Mucor* ganha destaque na biotecnologia sendo responsável pela produção de várias enzimas como: amilase, lipase, pectinase e protease de importância comercial. (PETRUCCIOLI e FEDERICI, 1992). *Mucor rouxii* foi apontado por Mullen et al. (1992) e Yan e Viraraghavan (2003) como um fungo promissor na remoção de metais como prata, ouro, cádmio, chumbo e zinco.

Assim como os demais microrganismos pertencentes ao gênero, *M. rouxii* é comumente encontrado no solo e nos mais variados substratos, sendo disseminado pela ação da enxurrada das chuvas e por ação dos ventos. Em humanos é considerado um patógeno fraco, causando alergias respiratórias e pneumonias por hipersensibilidade, sendo muito raros casos de infecções por ação deste, ocorrendo apenas em pacientes que se encontram em estado muito debilitado (EMLAB, 2015).

*M. rouxii* é um fungo filamentosos que se apresenta nesta forma em condições aeróbias e anaeróbias de incubação, em atmosferas com baixo teor de CO<sub>2</sub>. Na ausência de oxigênio, em meios ricos em CO<sub>2</sub> ele apresenta forma de levedura (BARTNICKI-GARCIA e NICKERSON, 1962a). Outra característica é que ele apresenta quitosana como principal componente de sua parede celular. A forma filamentosos e leveduriforme apresentam respectivamente 32,7% e 27,9% deste componente em relação aos demais (BARTNICKI-GARCIA e NICKERSON, 1962b). Motivo que tem levado o mesmo a ser utilizado como fonte alternativa para a produção de quitosana (SYNOWIECKI e AL-KHATEEB, 1997)

### **3.2.2 Bactérias**

#### **3.2.2.1 *Escherichia coli* T. Escherich, 1885.**

O gênero *Escherichia* é, reconhecidamente, o mais estudado entre todas as bactérias e compreende as espécies *E. coli*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* e *E. vulneris*. Entretanto, *E. coli* é a espécie de maior interesse, contendo uma grande

variedade de sorotipos e grupos patogênicos ao homem (TRABULSI et. al., 1999; JAY, 2005).

*Escherichia coli* apresenta-se na forma de bastonetes Gram-negativos, anaeróbios facultativos, com temperatura ótima de desenvolvimento variando de 35 a 37°C, sendo considerada de origem unicamente fecal, habitando o trato intestinal do homem e animais. Fermenta a lactose com formação de gás a 35°C (FRANCO e LANDGRAF, 2002).

Conforme Trabulsi et. al. (1999) apresenta-se nas seguintes formas: *E. coli* enteropatogênica (EPEC); *E. coli* enterotoxigênica (ETEC); *E. coli* enteroinvasora (EIEC); *E. coli* entero-hemorrágica (EHEC); *E. coli* enteroagregativa (EAaggEC) e *E. coli* que se adere difusamente (DAEC).

Reconhecida como patógeno de origem alimentar em 1971 (JAY, 2005), as variedades de *E. coli* diferem na patogenicidade, podendo causar desde leves infecções intestinais à meningites e septicemias (TRABULSI et. al., 1999).

Em sistemas de água em baixas temperaturas foram identificados uma grande variedade de coliformes, dentre eles *E. coli* associados à tubérculos de corrosão, podendo, inclusive esses tubérculos fornecer abrigo sendo utilizados para sustentar uma população diversa de agentes patogênicos oportunistas e capaz de participar no processo de corrosão (EMDE et al., 1992).

### **3.2.2.2 *Pseudomonas aeruginosa* Schroeter, 1872.**

O gênero *Pseudomonas* foi criado por Migula, em 1894 para descrever “células com órgãos polares de motilidade” (PALLERONI,1986). Atualmente compreende um conjunto de bactérias em forma de bastonetes, Gram-negativas, não esporuladas, catalase e oxidase positiva, com flagelos polares ou subpolares e diâmetro máximo de 5µm, abrangendo cerca de 200 espécies com característica marcante de grande versatilidade, uma vez que não são muito exigentes nutricionalmente, alimentando-se de diversas fontes de carbono e estando amplamente distribuídas na natureza (PALLERONI,1986; ARRUDA, 1998; TRABULSI, 1999).

A classificação taxonômica das *Pseudomonas* foi descrita inicialmente por Stanier et al. (1966) baseando-se em suas características nutricionais e bioquímicas.

O gênero *Pseudomonas* foi classificado em quatro grupos, sendo eles fluorescente, pseudomallei, acidovorans e alcaligenes. Com o advento das técnicas de biologia molecular, Palleroni et al. (1972) reuniram estes microrganismos em 5 grupos, levando-se em conta a homologia DNA-rRNA (RODRIGUES, 2010). Kesters et al. (1996) realizaram nova classificação, incluindo novos gêneros à família Pseudomonaceae tais como Burkholderia, Stenotrophomonas, Ralstonia, Comomonas, Shewanella, Metilobacterium, Sphingomonas, Acidovorax e Brevundimonas (KONEMANN et al., 2008).

Pertencente à família Pseudomonadaceae, *Pseudomonas aeruginosa* são bactérias em forma de bastonete, retas ou ligeiramente curvas, aeróbias estritas, podendo ser observado como células isoladas, aos pares, ou em cadeias curtas, revelando mobilidade através de flagelo polar monotríqueo, (POLLACK, 1995). Habitam o solo, água e vegetais e podem ser encontradas na pele, em alimentos e água. Para sua classificação devem ser consideradas algumas características metabólicas como: é redutora de ferro, não fermentadora de carboidratos, produtora de 3 citocromo-oxidase, utiliza o nitrato em substituição ao oxigênio como acceptor final de elétrons, produzindo também Arginina desidrolase e Ornitina-descarboxilase.

A sua principal característica é a capacidade de produzir um pigmento azul-esverdeado, denominado piocianina (EMLE, 1992; TRABULSI, 1999). A piocianina e a pioverdina são pigmentos fluorescentes difusíveis no meio de cultura produzidos por este microrganismo. Algumas cepas produzem um pigmento avermelhado (piorrubina) ou preto (piomelanina) (RODRIGUES, 2010).

Bactérias do gênero *Pseudomonas*, possuem a habilidade de sobreviver em ambientes aquosos, sendo contaminantes de águas industriais, geram depósitos de *biofouling* em instalações e tubulações e podem ser encontradas junto a outros microrganismos, envolvidas em processos biocorrosivos (VIDELA, 2003). Existem registros de *P. aeruginosa* encontrada em piscinas e em tubulações (MURRAY et al., 2003).

Emde et. al. (1992) relatam a presença de *P. aeruginosa* em meio a um grupo heterogêneo de bactérias potencialmente corrosivas encontradas em tubérculos de corrosão, água tratada e não tratada no Canadá.

### 3.3 Quitosana

A quitosana (Figura 4) pode ser definida como um copolímero de 2-amino-2-desoxi-*D*-glicopirranose e 2-acetamida-2-desoxi-*D*-glicopirranose, de composição variável em função do grau residual de acetilação, cujas unidades também são unidas por ligações glicosídicas  $\beta$ -(1, 4), sendo obtida a partir da desacetilação da quitina (Figura 5) em soluções alcalinas (ANTONINO, 2007).

Durante o curso da desacetilação alcalina, ligações N-acetil do polímero quitina são rompidas, formando-se a D-glicosamina, que contém um grupo amino livre. Entretanto, a quitosana não pode ser considerada uma molécula uniforme e sim um grupo de polímeros parcialmente desacetilados, dos quais os que apresentam grau de desacetilação acima de 50% podem ser considerados como quitosana (CRAVEIRO, 1999).

Ela foi descoberta em 1859 por C. Rouget em seus experimentos, quando a quitina entrou em contato com uma solução de hidróxido de potássio em ebulição.

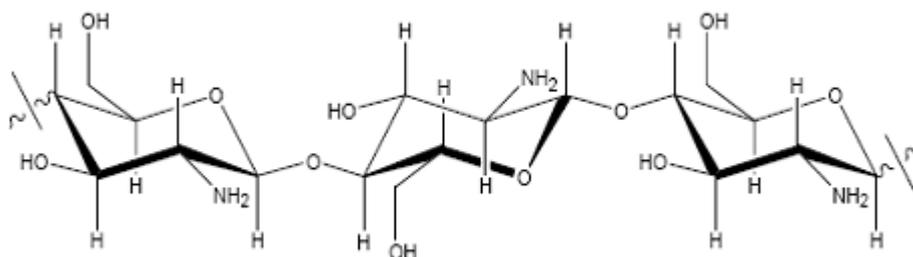
A quitina é o segundo polímero mais abundante na natureza, estando a celulose em primeiro lugar. É um polissacarídeo constituído por uma sequência linear de açúcares monoméricos do tipo  $\beta$ -(1-4) 2-acetamido-2-deoxi-*D*-glicose (*N*-acetilglicosamina) possuindo, assim, estrutura semelhante à das fibras de celulose. A diferença estrutural entre estas duas fibras se deve aos grupos hidroxila, localizados na posição dois, que são substituídos na quitina por grupos acetamino.

Sua principal fonte natural de obtenção é a carapaça de crustáceos (caranguejos, camarões, lagostas e siris), podendo também ser encontrada em insetos, moluscos e na parede celular de fungos, onde os teores variam entre traços até 45% da fração orgânica e o restante é composto em maior quantidade por proteínas, glucanas e mananas (ROBERTS, 1992). Porém, nem todos os fungos contêm quitina, a qual pode estar ausente em algumas espécies próximas a outras que contenham quitina como componente da parede celular (PETER, 2002).

A quitina apresenta grande variedade de usos, principalmente na indústria têxtil, alimentícia e de cosméticos. Entretanto, sua maior aplicação encontra-se na

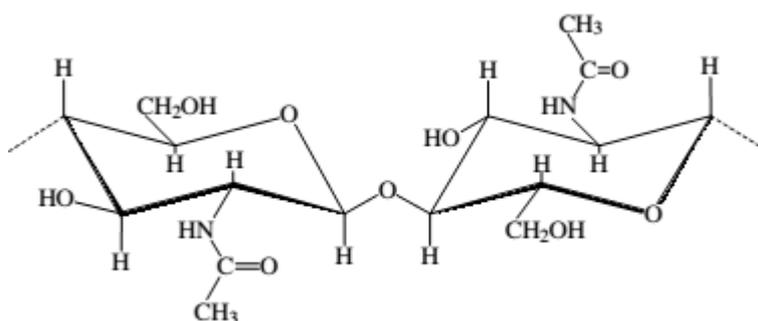
produção de quitosana, que pode ser utilizada em diversas aplicações (DALLAN, 2005).

Figura 4. Quitosana



Fonte: Antonino, 2007.

Figura 5. Quitina



Fonte: Dutta et al., 2004

### **3.3.1 Quitosana como inibidora do crescimento microbiano**

A descoberta da atividade antimicrobiana da quitosana e seus derivados foi feita por Allan e Hadwiger, no ano de 1979, enquanto os mesmos testavam o efeito da quitina e quitosana na inibição de 46 espécies de fungos. Após estas descobertas, muitos pesquisadores têm direcionado seus estudos para este campo e a atividade antimicrobiana da quitosana e de seus derivados contra diferentes grupos de microrganismos como bactérias, leveduras e fungos filamentosos, nos mais diferentes substratos, receberam considerável atenção, principalmente no âmbito alimentar.

O modo de aplicação da quitosana também tem sido estudado, podendo esta ser aplicada de modo agregada aos diferentes tratamentos, dissolvida em solução ácida (em ácido acético ou clorídrico) sendo aspergida (solução), misturada ou ainda em forma de filmes (OLIVEIRA JÚNIOR, 2006; FERNANDEZ-SAIZ et al., 2010; BENTO et al. 2011; COQUEIRO et al., 2011).

Costa e Júnior (2010) demonstram o uso da quitosana em combinação com celulose obtida do bagaço da cana na confecção de uma fibra têxtil com propriedades cicatrizante, fungicida e bactericida.

#### **3.3.1.1 Efeito bactericida ou bacteriostático**

O uso da quitosana e seus efeitos no combate a bactérias pode ser observado na Tabela 1. Estes foram obtidos utilizando uma região de pH levemente ácido (em torno de 6). Acredita-se também que as diferenças de resultados obtidos nos diversos trabalhos citados possam estar relacionadas às cepas empregadas, o tempo em que as mesmas estiveram armazenadas, o método empregado na preservação assim como o número de repiques realizados até a utilização dos microrganismos.

**Tabela 1. Efeito da adição de quitosana em diversos alimentos.**

Bactérias	Concentração de quitosana	Efeito	Autor
<i>Staphylococcus aureus</i>	1-1,5% (m/v)	Completa inativação	Wang, (1992)
<i>S. aureus</i>	0,005% (m/v)	Completa inativação	Chang et al., (1989)
<i>E. coli</i>	0,005% (m/v)	Completa inativação	Chang et al., (1989)
<i>E. coli</i> , <i>Proteus vulgaris</i>	0,0075% (m/v).	Completa inativação	Simpson et al. (1997)
<i>E. coli</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>S. aureus</i>	0,002% (m/v); 0,05% (m/v); 0,1 % (m/v) 0,002% (m/v)	Completamente inibidos.	Seo et al. (1992)
<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> e <i>Salmonella</i> sp.	Filmes de 40 mg e 80 mg	Diminuição da taxa de crescimento	Fernandez-Saiz et al. (2010)
<i>Xanthomonas gardneri</i>	3 mg/mL	Inibição de 56% em relação ao controle. Estimulou os mecanismos de defesa na planta.	Coqueiro et al. (2011)
<i>L. monocytogenes</i>	5 mg de quitosana / g de patê	Redução no crescimento	Bento et al. (2009)

Fonte: a autora

Sudharshan et al., (1992) relatam que a quitosana não apresentou atividade bactericida em pH 7 por duas razões principais: a presença de uma porção significativa de grupos amino não carregados e a baixa solubilidade de quitosana. Os estudos de Papineau et al. (1991) concordam com estes resultados pois em estudo similar realizado onde a concentração de 0,2 mg.mL<sup>-1</sup> de lactato de quitosana reduziu a população de *E. coli* a 2 e 4 ciclos logaritmos durante 2 e 60 minutos de exposição, respectivamente.

Não se pode afirmar que existe um mecanismo único e clássico para a ação da quitosana frente aos microrganismos, porém Raafat et al. (2008) especulam que a ligação de quitosana com ácidos teicóicos, juntamente com uma extração potencial de lípidos da membrana (ácido predominantemente lipoteicóico) resultam em uma sequência de eventos, que pode levar à morte bacteriana.

Eles ainda citam que o tratamento de quitosana leva a várias alterações nos perfis de genes *Staphylococcus aureus*, envolvidos na regulação do stress e a autólise de expressão, assim como os genes associados com o metabolismo da energia. Foi detectada também uma simultânea permeabilização da membrana celular para pequenos componentes celulares, acoplados a uma despolarização significativa da membrana de células bacterianas.

### 3.3.1.2 Efeito fungicida ou fungistático

A quitosana também tem demonstrado ação antifúngica. Ao longo do tempo vários estudos vêm sendo desenvolvidos. El Ghaouth et al., (1992) observaram diminuição do crescimento radial dos fungos *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizopus stolonifer* ao trabalhar com concentrações de 0,75 a 6,0 mg.mL<sup>-1</sup>. O mesmo efeito foi observado por Cheah e Page (1997) contra *Sclerotinia sclerotiorum*, ao se aumentar a concentração de quitosana de 1 a 4% (m/v).

Em testes com *Rhizoctonia solani*, Wade e Lamondia (1994) observaram a redução do crescimento micelial utilizando concentrações de quitosana de 0,05 a 0,6% (m/v) *F. solani* f. sp. *phaseoli* e *F. solani* f. sp. *pisi* apresentaram inibição completa do crescimento em concentrações de 1,2% e 1,8% (m/v) respectivamente (HADWIGER e BECKMAN, 1980; KENDRA e HADWIGER, 1984).

Bautista-Baños et al. (2004) obtiveram a completa inibição de crescimento dos fungos *F. oxysporum*, *R. stolonifer*, *Penicillium digitatum* e *C. gloeosporioides* com concentração de 3% de quitosana (m/v). *Mucor racemosus* não teve seu crescimento inibido, porém observou-se uma redução de 73% do crescimento ao utilizar 0,2% de quitosana (ROLLER e COVILL, 1999)

Oliveira-Júnior (2006) coloca que o uso da quitosana contra fungos fitopatogênico, apresentaram resultados promissores (Tabela 2).

**Tabela 2. Efeito do revestimento de quitosana formado na superfície de frutos e hortaliças imersas pós-colheita (a) em soluções ácidas de quitosana ou de frutos e plantas pulverizadas pré-colheita (b) com quitosana, inoculados com seus respectivos fungos fitopatogênicos.**

<b>Fruto, hortaliça ou planta</b>	<b>Fungo</b>	<b>Concentração de quitosana % (m/v)</b>	<b>Redução da doença (%)</b>	<b>Autor</b>
<b>Cenouras<sup>a</sup></b>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	2 e 4	62	Cheah & Page (1997)
<b>Cenoura<sup>a</sup></b>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	2,0 e 4,0	68	Cheah & Page (1997)
<b>Morango<sup>a</sup></b>	<i>B. cinerea</i>	1,0 e 1,5	77	El Ghaouth et al. (1991b)
<b>Morango<sup>a</sup></b>	<i>B. cinerea</i> e <i>R. stolonifer</i>	1,5	60	El Ghaouth et al. (1992b)
<b>Morango<sup>b</sup></b>	<i>B. cinerea</i>	0,2 a 0,6	45 a 62	Bhaskara Reddy et al. (2000)
<b>Mamão<sup>b</sup></b>	<i>C. gloeosporioides</i>	1,5	60	Bautista-Baños et al. (2003)
<b>Planta de pepino<sup>b</sup></b>	<i>B. cinerea</i>	0,1	65	Ben-Shalom et al. (2003)

Fonte: Adaptado de Oliveira-Júnior (2006)

Oliveira-Júnior (2006) em revisão, descreve diversos fatores que poderiam estar relacionados à ação antifúngica da quitosana: (a) o fato de a quitosana ser um polímero carregado positivamente pode prevenir a ligação do conídio fúngico a algum sítio; (b) a quitosana promoveu a redução do tamanho dos tubos de germinação e que, excessivas ramificações micelianas, formas anormais, grandes vesículas ou células vazias isentas de citoplasma nas hifas, inchamento e redução do tamanho das hifas foram identificadas em fungos de diversos gêneros após tratamento com quitosana; (c) quanto à sua aplicação em vegetais seu uso provocou alterações fisiológicas primárias que foram observadas em plantas

tratadas com quitosana, cujas aberturas dos estômatos foram diminuídas o que dificulta o acesso fúngico no interior dos tecidos das folhas.

Lee et al. (1999) também observaram que células guarda em folhas de plantas, produzem  $H_2O_2$ , que é um composto mediador do estímulo promovido por quitosana que induz a diminuição das aberturas estomatais. Oligossacarídeos de quitosana estimularam o acúmulo de lignina, calose, fitoalexinas, e/ou inibidores de proteases em vários tecidos de plantas, resultando numa indução à proteção contra o ataque fúngico.

### **3.3.2 Quitosana em concreto e como inibidora de corrosão.**

O uso da quitosana na construção civil é um assunto ainda pouco explorado. Poucas referências foram encontradas que descrevessem a aplicação da quitosana para estes fins.

Nóbrega (2009) utilizou quitosana em pastas de cimento para cimentação de poços de petróleo obtendo resultados variáveis uma vez que o uso de quitosana em grandes quantidades alterou significativamente a viscosidade das pastas de cimento, o que leva a grande demora no tempo de solidificação. Também pôde-se perceber que as pastas que tinham uma maior quantidade de quitosana não misturavam, o que levou à necessidade do uso de aditivos e dispersantes para que se pudesse obter bons resultados.

Em estudos realizados por Lisbôa (2011) os resultados demonstraram que a composição de concreto com a quitosana (0,05%) e de concreto com a quitosana (0,10%) e resíduos de mármore e granito reduziram a migração de íons cloreto e aumentam a durabilidade dessa série de concretos em relação ao concreto de referência sem quitosana e sem resíduo, indicando o seu uso em concretos. O autor ainda sugere estudos sobre o uso da quitosana frente à corrosão microbiana.

### **3.3.3 Experiência do grupo com a quitosana.**

Os estudos do grupo utilizando o biopolímeros, neste caso, a quitosana, envolveram uma série de aplicações que podem ser descritas nos trabalhos abaixo mencionados.

Em 2009, Nunes et al. realizaram o preparo e a caracterização morfológica de filmes de quitosana/argila (Na-bentonite, Cloisite 30B ou Nanocor I-24) na obtenção de nanocompósitos.

Praxedes et al. (2012) demonstraram a capacidade de agregação e formação de filmes contendo quitosana e derivados de dansila, que resultaram no aumento acentuado da sensibilidade ultravioleta dos filmes poliméricos. Ainda se tratando de polímeros condutores, Silva et al. (2014) estudaram o uso da quitosana, polianilina e argila no preparo de filmes híbridos de modo a obter um reforço da resposta eletrocromica destes filmes poliméricos. Estes materiais apresentaram boas propriedades eletrocromicas, podendo ser aplicados na montagem de dispositivos eletrocromicos.

Já os estudos dirigidos às propriedades anticorrosivas da quitosana foram feitos por Santos Filho et al. (2009), utilizando a quitosana como inibidor da corrosão de aço CA 60 em meio alcalino, obtendo bons resultados. O mesmo autor (2010) demonstrou a eficácia da quitosana no controle da corrosão provocada por difusão de cloretos (BR201003149-A2)

Lisbôa (2011), citado no tópico anterior, em estudos utilizando concreto com adição de quitosana e resíduos de mármore e granito (RBMG) obteve resultados promissores frente à migração de cloretos e durabilidade dessa série de concretos em relação ao concreto de referência sem quitosana e sem resíduo, indicando o uso da quitosana como inibidora de corrosão.

### 3.4 Prospecção tecnológica

Através da Prospecção Tecnológica são levantadas todas as tecnologias existentes, identificando o estágio de maturidade da tecnologia em questão e como ela se insere na sociedade. Pode-se identificar também aspectos de tecnologias concorrentes e lacunas a serem preenchidas, onde é possível que determinada tecnologia ou suas variações sejam competitivas (QUINTELLA et. al, 2011).

Foram encontradas um total de 10 patentes buscadas no site do Instituto Nacional da Propriedade Industrial - INPI e Derwent, utilizando os termos: *Quitosana/Chitosan and Microbiana/Microbial* ou *Quitosana/Chitosan and Microbiológica/Microbiological*, referentes à aplicação da quitosana com a finalidade antimicrobiana, descritas abaixo:

- PI9805479-1 19/11/1998 Gel fitoterápico de quitina e *Spondias mombin* com propriedades antiviróticas.

A presente invenção refere-se a preparação de um gel fitoterápico a partir do extrato hidroalcoólico da espécie vegetal *Spondias mombin* utilizando-se como veículo e agente gelificante a quitosana, com propriedades antimicrobiana e antivirótica, notadamente contra o vírus da Herpes Simplex.

- PI9805480-5 19/11/1998 Membrana de quitina e quitosana para utilização em regeneração de tecidos e cicatrizações.

A presente invenção refere-se a preparação de membranas utilizando quitina e quitosana para utilização em regeneração de tecidos e para acelerar cicatrizações em ferimentos e queimaduras. A utilização de membranas destes dois polissacarídeos sobre o tecido agredido pode apressar a regeneração do ferimento, servindo também estas membranas como veículo para outros agentes terapêuticos como, antibióticos, sulfadiazina de prata e outros agentes cicatrizantes como cartilagem de tubarão. As principais vantagens do uso destas membranas se devem ao fato de as mesmas serem totalmente compatíveis com o tecido animal, sendo absorvidas pelo organismo, o que evitaria a retirada posterior

do curativo, além de apresentarem atividade antimicrobiana e cicatrizante, o que é altamente desejável em materiais desta natureza.

- PI0003114-3\_24/07/2000 Quitosana e seu método de preparação.

Trata-se de uma quitosana altamente desacetilada obtida a partir de biomassa microbiana, um método de obtenção de quitosana a partir de biomassa microbiana, e biomassa para produção da quitosana são apresentados. O método inclui o fornecimento de biomassa contendo quitina; reagir a biomassa contendo quitina em uma solução cáustica com concentração de álcali maior do que 25%; à temperatura de reação maior do que 95°C, para um período de reação de no mínimo 10 horas, para converter a quitina da biomassa em quitosana; e separando a quitosana da solução cáustica.

- PI0311803-7 12/06/2003 Siloxanos substituídos com halamina heterocíclicos para uso em revestimentos e materiais biocidas.

Monômeros e polímeros de siloxano funcionalizados por certas frações heterocíclicas N-halogenadas são providos para o propósito de funcionalizar superfícies ou materiais de modo a torná-los biocidas quando da exposição a soluções halogênicas oxidantes. A função biocida pode ser conferida ou antes ou após a ligação ou aderência à superfície do material. As superfícies e materiais biocidas podem ser então usadas para inativar microrganismos patogênicos tais como bactérias, fungos, e leveduras, bem como partículas de vírus, que podem provocar doenças infecciosas, e aqueles microrganismos que provocam odores nocivos e coloração desagradável tais como o mofo. Exemplos de superfícies e de materiais que podem ser tornados biocidas nessa invenção incluem, mas não estão limitados a celulose, quitina, quitosana, fibras sintéticas, vidro, materiais cerâmicos, plásticos, borracha, argamassa de cimento, vedação de látex, porcelana, filmes

acrílicos, vinil, poliuretanas, tubulações de silicone, mármore, metais, óxidos metálicos, e sílica.

- PI0417991-9 22/12/2004 Montagens, sistemas e métodos de curativo de tecido formado por estruturas de esponja de polímero hidrofílico como, por exemplo, quitosana.

Montagens de curativo de tecido são formadas de estruturas de esponja de polímero hidrofílico. As montagens de curativo de tecido podem ser usadas, por exemplo, para (i) estancar, selar ou estabilizar um local de lesão tecidual, trauma tecidual ou acesso tecidual; ou (ii) formar uma barreira antimicrobiana; ou (iii) formar uma atadura antiviral; ou (iv) intervir em um distúrbio de sangramento; ou (v) liberar um agente terapêutico; ou (vi) tratar uma superfície mucosa; ou (vii) combinações destes. As estruturas de curativo de tecido são tornadas complacentes, por exemplo, por (i) microfratura de uma porção substancial da estrutura da esponja por manipulação mecânica antes do uso, ou (ii) um padrão de alívio da superfície formado em uma porção substancial da estrutura da esponja antes do uso, ou (iii) um padrão de canais de entrada de fluido formado em uma porção substancial da estrutura da esponja antes do uso, ou (iv) a impregnação de um material da folha dentro da estrutura da esponja.

- PI0519404-0 20/12/2005 Barreiras antimicrobianas, sistemas e métodos formados a partir de estruturas poliméricas hidrofílicas tais como a quitosana.

Barreira antimicrobiana compreendendo uma estrutura incluindo um biomaterial de quitosana. As barreiras antimicrobianas podem ser usadas para, por exemplo, (i) estancar, selar ou estabilizar um sítio de lesão tecidual, trauma tecidual ou entrada no tecido; ou (ii) formar uma barreira antimicrobiana; ou (iii) formar um curativo antiviral; ou (iv) intervir em uma desordem de sangramento; ou (v) liberar um agente terapêutico; ou (vi) tratar uma superfície de

mucosa; ou (vii) combinações destas. A estrutura da barreira antimicrobiana pode ser densificada por compressão.

- PI0506647-6 25/11/2005 O uso de quitosana e *Spondias mombin* na preparação de fitoterápicos.

A presente invenção refere-se à preparação de um gel fitoterápico a partir do extrato hidroalcolico da espécie vegetal *Spondias mombin* utilizando-se como veículo e agente gelificante a quitosana, com propriedades antimicrobiana e antivirótica, notadamente contra o vírus da Herpes Simplex.

- PI1005619-0 A2 13/12/2010 Verniz polimérico de própolis.

A presente invenção descreve formulações farmacêuticas poliméricas capazes de veicular própolis, seu processo de preparação e aplicação. As formulações apresentadas podem ser produzidas a partir de polímeros naturais (celuloses, gomas, resinas, exudatos, gelatina, queratina, alginatos, celulose, galactomananas, quitosanas), seus derivados (metil, hidroxipropil, acetofalato, acetado, metoxi, hidropropoxi, acetofalil), hidrolisados e sais; ou sintéticos (derivados do ácido acrílico como poliacrilato, poli-metilmetaacrilato, poli-etilacrilato, poli-etilmetacrilato). As formulações podem ser utilizadas sobre a superfície do dente para a prevenção de cáries ou sobre superfícies mucosas para tratamento de doenças inflamatórias e bacterianas diversas, como aftas, periodontite e herpes.

- EP1825752-A2; DE102006008535-A1; EP1825752-A3; EP1825752-B1; DE502007002000-G 2006 Antibacterial coating composition, useful e.g. as a coating for hard surfaces, comprises a silicon dioxide production agent and antibacterial active substances e.g. cationic, anionic or nonionic deacetylated or chitosan or its derivatives.

NOVIDADE - Fornecer alta microbiológica da qualidade da água de resfriamento de processo industrial (9), é composto por: (a) coleta

de água de entrada da fonte de água; (B) o armazenamento de água de entrada no recipiente; (C) dentro de períodos de 7 dias, por exemplo (C1) para a temperatura da água do recipiente até e incluindo 35 ° C, mantendo-se a redução potencial de oxidação (ORP) do recipiente de água, por adição de agente desinfetante de água do recipiente; (D) ativação seguinte processos através dos meios de coordenação (10), por exemplo (d1) aplicando agente oxidante a água do recipiente; e (e) fornecimento de alta microbiológica da água de refrigeração de qualidade. USO - O método é útil: para fornecer alta microbiológica da qualidade da água de resfriamento de processo industrial (reclamado); e no sistema de refrigeração industrial com qualquer tipo de água disponível, incluindo a água doce, água salobra ou água do mar. VANTAGEM - O método; fornece água de refrigeração com alta clareza; aumenta a eficiência dos trocadores de calor, embora a utilização de água de alta qualidade (por exemplo comparável a piscina de água) a um baixo custo; e evita os efeitos adversos da poluição térmica associados à descarga de água em altas temperaturas para o mar e seu impacto sobre os organismos marinhos e impede a alta mortalidade de organismos aquáticos que pode ocorrer devido aos sistemas de aspiração.

- WO/2011/034931 2010 *Anti-fouling paints and coatings*.

São aqui descritos, tais como um material de revestimento, um elastómero, um adesivo, um selante, um acabamento têxtil, uma cera e um material de enchimento para um devido material que inclua uma molécula proteica, tal como um peptídeo e / ou uma enzima que confere um metal de ligação, um agente anti-incrustação e / ou uma propriedade antibiótica para o material. Em particular, são aqui divulgados revestimentos marinhos, tais como uma tinta marítima que compreende uma sequência de peptídeos anti-incrustantes que se liga reversivelmente a um cátion de um metal que é tóxico para um organismo incrustante. Também são aqui divulgados métodos de reduzir incrustações de uma superfície por tratamento da superfície com um peptídeo de ligação de metal.

Além destas, 6 outras patentes foram encontradas tratando do uso da quitosana como inibidora de corrosão, utilizando os termos de busca “*corrosion and concrete and chitosan*” ou *corrosion and concrete and chitosan and microbi\**”

- BR201003149-A2 Composição a base de quitosana como inibidor de corrosão em aço.

Trata a presente invenção de uma composição a base de quitosana. Esta composição apresenta como características: inibir corrosão de aço, ser atóxica, ser biodegradável, ter baixo custo de produção. Esta composição inibidora pode ser utilizada para inibir corrosão de aço em meio alcalino, adicionada a soluções, e/ou emulsões e/ou suspensões e/ou pastas predominantemente aquosas, ou ainda em argamassas, microconcreto ou concreto de cimento Portland.

- PI 0600628-0 A2 PASTA CIMENTANTE CONTENDO QUITOSANA

Trata a presente invenção de uma pasta cimentante á base de cimento Portland classe G e quitosana adicionada na proporção de 1 a 5% BWOC que constitui uma matriz de cimento com resistência mecânica aumentada e sendo a pasta adequada a poços sujeitos a operações sob condições severas de temperatura em campos de produção de petróleo.

- US2012091069-A1; WO2012134525-A1; AU2011363515-A1; US8454838-B2; CA2830097-A1; IN201302951-P2; KR2013135327-A; ZA201306540-A; EP2691576-A1; MX2013011197-A1; EP2708516-A1; AU2013203513-A1; PH12013501692-A1. *Providing high microbiological quality cooling water to industrial process, comprises storing inlet water in container, maintaining oxidation reduction potential by adding disinfectant, activating processes and applying oxidizing agent.*

NOVIDADE - Proporcionar alta qualidade microbiológica da água de refrigeração de processo industrial (9), é composto por: (a)

coleta de água de entrada da fonte de água; (B) o armazenamento de água de entrada no recipiente; (C) dentro de períodos de 7 dias, por exemplo (C1) para a temperatura da água do recipiente até e incluindo 35 ° C, mantendo-se a redução potencial de oxidação (ORP) do recipiente de água, por adição de agente desinfectante de água do recipiente; (D) ativação seguinte processos através dos meios de coordenação (10), por exemplo (d1) aplicando agente oxidante a água do recipiente; e (e) o fornecimento de água de refrigeração de alta qualidade microbiológica. USO - O método é útil: para fornecer alta qualidade microbiológica da água de refrigeração de processo industrial (reclamado); e no sistema de refrigeração industrial com qualquer tipo de água disponível, incluindo a água doce, água salobra ou água do mar.

- WO2008150039-A1; KR2010046006-A; KR1360262-B1. *Composition useful as non-chlorinated anti-freezing composition for concrete, comprises organic acid salt selected from alkali metal, and alkaline earth metal formate or alkaline earth metal acetate; polysaccharide; and water.*

NOVIDADE - Uma composição anti-congelante sem cloro para concreto, compreende pelo menos um dos sais de ácidos orgânicos selecionados a partir de um metal alcalino, metal alcalino-terroso e de formato ou acetato de metal alcalino-terroso; pelo menos um dos polissacáridos selecionados a partir de quitina, quitosana e quitina, quitosana, em que o grupo acetil da quitina é parcialmente removido; e a água. USO - Como composição anti-congelamento não clorados para concreto (declaradas).

- DE102010032619-A1; WO2012013335-A2; WO2012013335-A3; WO2012013335-A4; EP2598588-A2; US2013280523-A1 *Coating composition, useful e.g. as internal coating for containers, comprises titanium dioxide-producing agent and a component comprising collagen, chitosan, phenol and/or substituted quaternary ammonium salts of alkylated phosphoric acid.*

Composição de revestimento compreende (a) 51-99,9 (preferivelmente 80-98)% em peso de titânio, agente de produção de dióxido de carbono, e (b) 0,1-49 (preferivelmente 2-20)% em peso de pelo menos um componente compreendendo colágeno, quitosana, fenóis e / ou sais de amónio quaternário substituídos de ácido fosfórico alquilado.

- WO2012018403-A1; US2012064022-A1; CA2807336-A1; EP2601245-A1; CN103154095-A; JP2013539484-W; HK1185093-A0. *New polysiloxane compounds used in e.g. antifoam, lubricant, hydraulic fluid, water repellent, release agent, skin cleansing, personal care or cosmetic compositions, deodorants, insect repellents and hair conditioners.*

NOVIDADE - compostos de polissiloxano (I) são novos. USO - (I) é útil: a uma composição, que é uma composição anti-espuma (para reduzir a espuma de um sistema), a composição de lubrificante (para lubrificar uma superfície do corpo, lubrificantes genitais de um assunto, para proporcionar lubrificação vaginal), composição de fluido hidráulico, a composição repelente de água (para fazer um substrato (concreto, argamassa, tijolo, estuque, telha, madeira, metal, plástico, vidro, têxteis, couro, cerâmica e papel) à prova de água ou repelente de água), composição de agente de libertação, cuidados pessoais ou a composição de cosméticos, desodorantes, antitranspirantes, repelentes de insetos, anestésicos, (...) Não existem dados biológicos indicados.

## 4 METODOLOGIA DE PREPARO DE CORPOS DE PROVA E MANUTENÇÃO DE MICRORGANISMOS

### 4.1 Local de análise

As análises físico-químicas e microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Eletroquímica Aplicada (LEAp) e no de Biotecnologia e Enzimologia (LBE) do Instituto de Química e Biotecnologia (IQB) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL). A confecção dos eletrodos de aço e concreto foi feita no Laboratório de Estruturas e Materiais do Centro de Tecnologia – LEMA - UFAL

### 4.2 Microrganismos utilizados

As cepas de *Escherichia coli* (CCT 0547), *Pseudomonas aeruginosa* (CCT 7261), *Mucor rouxii* (CCT 2665), *Aspergillus niger* (CCT 3941), *Penicillium oxalicum* (CCT 4815) e *Fusarium solani* (CCT 2876) foram adquiridas da Coleção de Culturas Tropicais - Fundação André Tosello.

### 4.3 Preparo dos meios de cultura para manutenção microbiana.

a) Meio para manutenção das cepas de *E. coli* e *P. aeruginosa*:

Foi preparado meio Ágar Nutriente (AN) em frascos Erlenmeyer de acordo com Silva et al. (2001), contendo a seguinte composição: extrato de carne (3,0 g), peptona (5,0 g), ágar (15,0 g), NaCl (6,0 g) completados a 1000 mL com água destilada.

Após a autoclavagem, o meio foi vertido em placas de Petri estéreis e tubos de ensaio com tampa para solidificação e inoculação dos microrganismos.

b) Fungos: O meio Batata Dextrose-Agar (BDA) Acumedia® foi preparado conforme descrito pelo fabricante. Após a autoclavagem, verteu-se o meio em placas de Petri esterilizadas e aguardou-se sua solidificação para posterior inoculação.

Os microrganismos foram mantidos sob refrigeração (aproximadamente 4°C) e os repiques foram feitos mensalmente.

#### **4.4 Preparo dos meios de cultura para o teste de consumo de quitosana pelos microrganismos.**

Foram preparados meios de cultura mínimos, cuja composição contém apenas os nutrientes indispensáveis para o crescimento microbiano e que é utilizado normalmente para testes de crescimento com a substituição de um dos componentes por aquele que se deseja avaliar. Neste caso foi substituída a fonte de carbono (normalmente glicose) pela quitosana, para confirmação do consumo desta pelos microrganismos estudados.

A formulação do meio 1 (Tabela 3) está de acordo com Araújo e Lemos (2002) sendo este um derivado de meio Czapeck modificado. Além deste, três outras composições foram testadas e estão descritas na Tabela 3.

**Tabela 3. Composição dos meios de cultura utilizados para teste de crescimento microbiano utilizando quitosana como única fonte de carbono.**

<b>Meio 1 (pH = 6)</b>	<b>Meio 2 (pH = 4)</b>	<b>Meio 3 (pH = 5)</b>	<b>Meio 4(pH = 6)</b>
NaNO <sub>3</sub> - (3,00 g)	-	NaNO <sub>3</sub> - (3,00 g)	NaNO <sub>3</sub> - (3,00 g)
MgSO <sub>4</sub> - (0,50 g)	-	MgSO <sub>4</sub> - (0,50 g)	MgSO <sub>4</sub> - (0,50 g)
KCl - (0,50 g)	-	KCl - (0,50 g)	KCl - (0,50 g)
FeSO <sub>4</sub> - (0,010 g)	-	FeSO <sub>4</sub> - (0,010 g)	FeSO <sub>4</sub> - (0,010 g)
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> - (1,00 g)	-	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> - (1,00 g)	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> - (1,00 g)
Quitosana - (10,0 g)	Quitosana - (10,0 g)	Quitosana - (10,0 g)	-
Ágar-ágar - (13,0 g)	Ágar-ágar - (13,0 g)	-	-

Fonte: Adaptado de Araújo e Lemos (2002)

Os microrganismos foram inoculados em placas de Petri contendo os meios teste e incubados em estufa a 25°C por 10 dias. Decorrido este tempo os resultados foram tabulados (Apêndice 1).

#### 4.5. Preparo dos corpos de prova e eletrodos de aço.

Foram adquiridas em comércio local barras de aço CA 25 e CA 50 Gerdau, comumente empregadas em construção civil, com diâmetro de 10 mm e 12,5 mm, respectivamente. A composição do aço fornecida pelo fabricante está descrita na Tabela 4. Deve-se atentar ao fato de que o elemento ferro (Fe) entra como balanço na composição química destes materiais.

**Tabela 4. Composição química do aço (Fe= bal.).**

Código do aço	Composição química (%)							
	C	Mn	Si	S	P	Cu	Cr	Ni
1022	0,21	0,73	0,18	Máx.	Máx.	Máx.	Máx.	Máx.
CA50				0,050	0,050	0,48	0,250	0,250
1020	0,20	0,45		0,050	0,030			
CA25								

Fonte: GERDAU - [www.gerdau.com.br](http://www.gerdau.com.br).

As barras de aço CA 25 foram cortadas em corpos de prova cilíndricos de 4,0 cm de comprimento por 0,96 cm de diâmetro (após esmerilhamento), enquanto os corpos de prova do aço CA 50 foram cortados com cerca de 0,3-1,0 cm ou com 5,0 cm de altura para os testes de perda de massa e medidas de diferença de potencial (DDP) respectivamente, com 0,96 cm de diâmetro (após esmerilhamento) (Figura 6). Todos foram inicialmente esmerilhados para retirada das ranhuras originais, escovados em máquina (Figura 7) e após este procedimento, foram lixados manualmente com lixas d'água de granulometria 250, 400 e 600 mesh, para retirar toda a superfície oxidada. Os corpos de prova foram armazenados em dessecador, sob vácuo, para evitar a oxidação e para posterior uso em testes de perda de massa, preparo de eletrodos com concreto e análise da corrosão.

Figura 6. Corpos de prova de aço CA 25 (A) e CA 50 (B).



Fonte: a autora.

Figura 7. Lixamento mecânico dos corpos de prova.



Fonte: a autora.

#### **4.6. Preparo dos corpos de prova de aço imersos em concreto para medidas de DDP.**

O concreto foi preparado, sendo a composição do traço descrita na tabela 5, de acordo com Lisbôa (2011). A escolha deste sistema justifica-se por estarem os estudos aqui apresentados vinculados aos resultados já obtidos pelo grupo e que demandavam respostas quanto à eventual ação microbológica (corrosiva) sobre o aço carbono na presença do biopolímero quitosana.

**Tabela 5. Composição do traço utilizado na confecção dos corpos de prova de aço e concreto de acordo com Lisbôa (2011).**

<b>TRAÇO</b>	<b>PADRÃO (QUANTIDADE EM KG PARA 32L)</b>	<b>COM ADIÇÃO DE QUITOSANA (QUANTIDADE EM KG PARA 32L)</b>
Cimento CP V-ARI	13,708	13,708
Areia de rio	27,41	27,41
Brita 0	22,34	22,34
*RBMG	5,89	5,89
Água	6,718	6,145
**Aditivo	0,194	0,194
***Quitosana	0	0,599

\* RBMG: Resíduo do Beneficiamento do Mármore e Granito

\*\* Aditivo Glenium®, hiperplastificante à base de éter policarboxilato.

\*\*\* Emulsão

Os passos para a mistura do traço foram:

1. Adição do agregado graúdo (brita) seguido do agregado miúdo (areia) em betoneira e agitação por 30 segundos.
2. Adição de cimento e RBMG e agitação por 30 segundos.
3. Adição de 80% da água de amassamento e agitação por 5 minutos.
4. Adição de 15% da água de amassamento contendo o aditivo e a solução de quitosana, se for o caso. Agitação por 2 minutos.
5. Adição dos 5% da água de amassamento e agitação por 2 minutos.

Durante o processo foi observado a trabalhabilidade, limpeza das paredes internas da betoneira e aspecto da mistura (Figura 8). Avaliou-se ainda as propriedades do concreto no estado fresco, através de ensaios tradicionais como os testes de funil “V”, espalhamento (cone de Abrams) e caixa “L” (Figuras 9, 10 e 11).

Figura 9. Concreto sendo preparado em betoneira



Fonte: a autora.

Figura 8. Funil V



Fonte: a autora.

Figura 11. Cone de Abrams



Fonte: a autora.

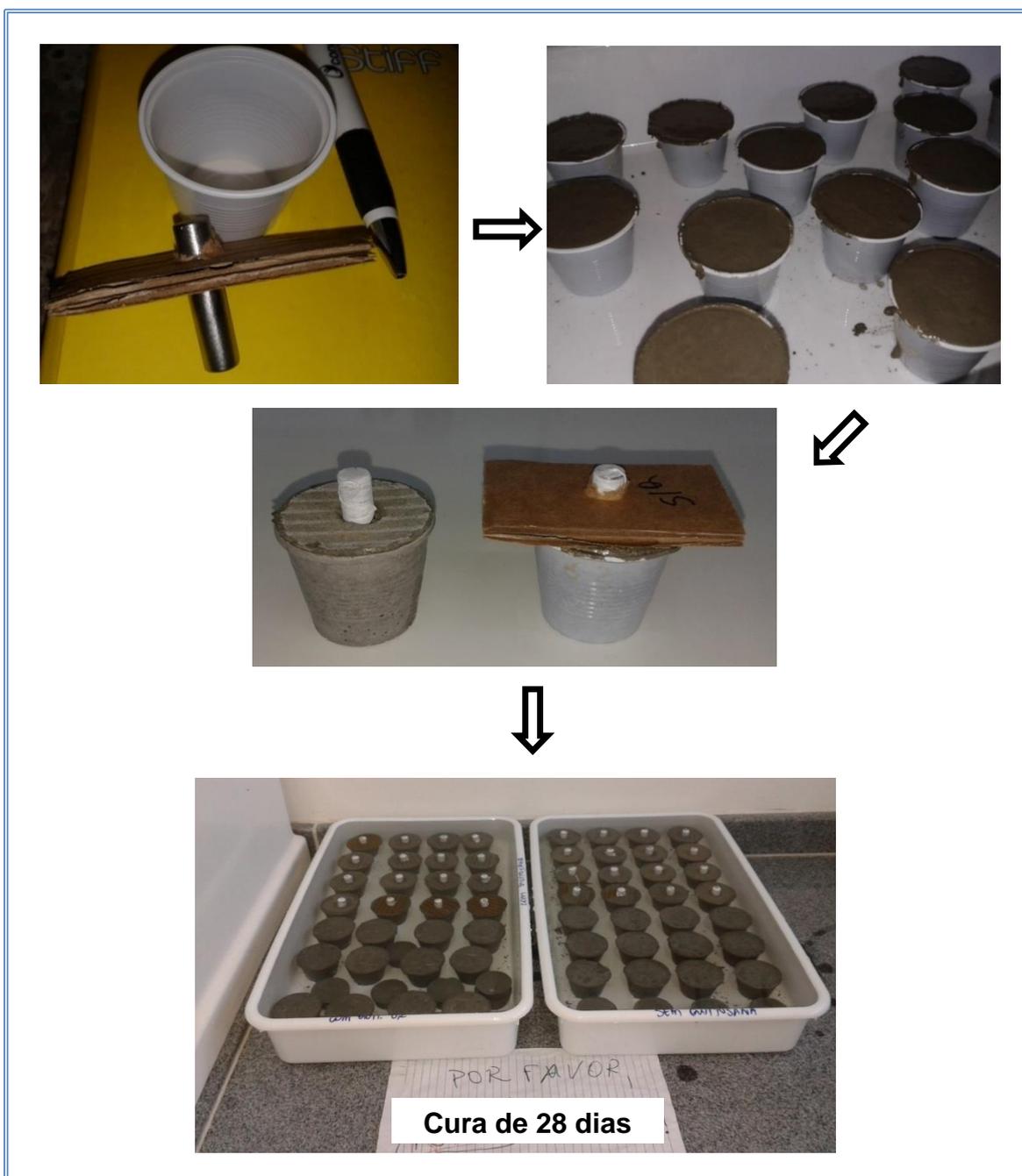
Figura 10. Caixa L



Fonte: a autora.

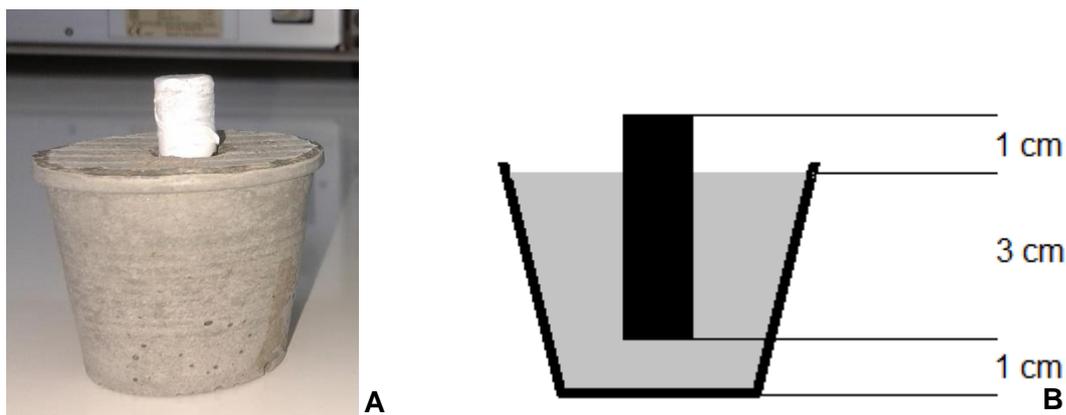
Após a mistura, os eletrodos de aço/concreto foram moldados com o auxílio de copos descartáveis com capacidade de 50ml. A Figura 12 ilustra o procedimento. Após a moldagem, os corpos de prova foram submetidos à cura de 28 dias.

Figura 12. Confeção dos corpos de prova de aço e concreto.



Fonte: a autora

Figura 13. Corpo de prova de aço e concreto (A) e esquema do seu interior (B).



Fonte: a autora.

Após o período de cura os corpos de prova foram postos sob vácuo, em dessecadores, para prevenir a oxidação do aço.

#### 4.7 Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando o Programa GrafPad Prism 6®, para Windows. Foram calculadas as médias e desvio padrão (DP), além de utilizar a ANOVA, o teste t de Student pareado (paramétrico) e de Dunnett para comparação e significância dos valores obtidos pelo cálculo de p. O p-valor, também denominado nível descritivo do teste, é a probabilidade de que a estatística do teste tenha valor extremo em relação ao valor observado (PORTAL ACTION, 2015).

## 5 TESTES DE PERDA DE MASSA DO AÇO CA 25 E CA 50 E MEDIDAS DA CORRENTE DE CORROSÃO.

### 5.1 Metodologia para os testes de Perda de massa e cálculo da corrente de corrosão

O teste de perda de massa é um método básico de avaliação da corrosão para a maioria dos sistemas corrosivos, pois se constitui na mais confiável evidência física destes processos (MOREIRA, 2004).

A aplicação dos ensaios de corrosão por perda de massa é realizada para quantificar a diferença entre a massa inicial do corpo de prova, antes de submetido ao processo corrosivo com sua massa após o processo de corrosão, em um determinado período de tempo. Este ensaio permite calcular a taxa de corrosão e, com isso, avaliar a intensidade do processo corrosivo, além de estimar a vida de um equipamento, bem como estimar o desgaste do material metálico em um dado ambiente (ARAÚJO, 2011).

Após a determinação da perda de massa dos corpos de prova foi calculada a corrente de corrosão a partir da equação 11:

$$j_{corr} = \frac{i_{corr}}{A} \quad (11)$$

Onde  $j_{corr}$  é a densidade de corrente,  $i_{corr}$  é a corrente média de corrosão absoluta e A, a área superficial do corpo de prova cilíndrico.

$$j = \frac{Q (F) / \Delta t (s)}{A (cm^2)} \quad (12)$$

Onde Q (quantidade de carga) é igual a:

$$\frac{1}{Q} = \frac{55,845 \left( \frac{g}{mol} \right) \times 2 \times 96.485 (C)}{\Delta m (g)} \quad (13)$$

E a área em  $cm^2$  (A) foi calculada por:

$$A = \frac{2m_0(g)}{r (cm) \times d \left( \frac{g}{cm^3} \right)} + 2\pi r^2 (cm^2) \quad (14)$$

Para todos os estudos foram consideradas a densidade do aço CA 25 e CA 50 como sendo  $7,85 \text{ g cm}^{-3}$  e diâmetro dos corpos de prova de 0,96 cm.

### 5.1.1 Perda de massa e cálculo da corrente de corrosão na ausência de microrganismos.

Os testes de perda de massa sem adição de microrganismos foram realizados em tubos de ensaio contendo solução padrão de  $\text{Ca(OH)}_2$  saturada com adição de 3,5% de NaCl (m/m). A esta solução foi adicionada de solução de quitosana (grau de desacetilação de 95%) 10 g/L, nas proporções de 5% e 10% (v/v). Os tratamentos analisados foram: A- padrão, B- padrão + 5% de quitosana e C-padrão + 10% de quitosana.

A estes tratamentos foram adicionados corpos de prova metálicos de aço CA 50 e CA 25, individualmente pesados em balança de precisão de 0,00001g, avaliando-se a perda de massa ocorrida no período de 30 e 90 dias.

Após a determinação da perda de massa dos corpos de prova foi calculada a corrente de corrosão a partir da equação 11.

### **5.1.2 Perda de massa e cálculo da corrente de corrosão em meio contendo bactérias.**

Para os testes de perda de massa na presença de bactérias foi utilizado meio de cultura líquido, sendo os tratamentos de seguinte composição:

- Meio 1: 85% de meio nutriente líquido (AN), 10% de solução de  $\text{Ca(OH)}_2$  saturado e 5% de água destilada. pH final 6,5;
- Meio 2: 85% de meio nutriente líquido, 10 mL de solução de  $\text{Ca(OH)}_2$  saturado e 5% de solução de quitosana, obtendo-se uma concentração final de 0,5 g/L de quitosana na composição. pH final 6,5;

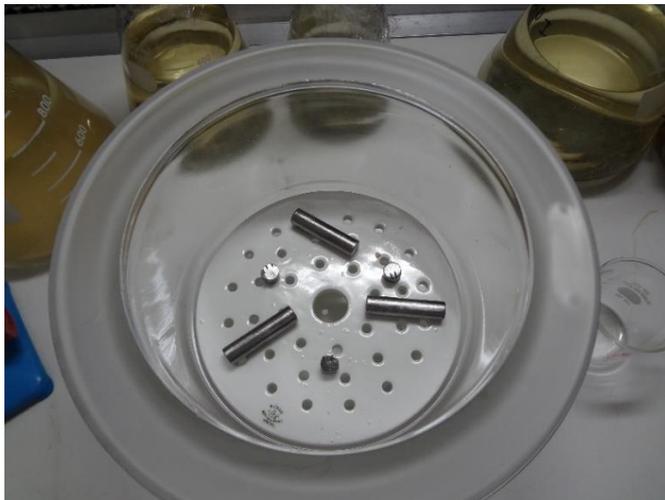
As células bacterianas foram contadas em câmara de Neubauer de forma a obter-se um inóculo de  $10^7$  células.

Como câmara de incubação, foi utilizado um dessecador de vidro esterilizado em autoclave a  $121^\circ\text{C}$  por 15 minutos, colocado sobre agitador magnético, onde foram colocados 6 corpos de prova metálicos (3 de aço CA 50 e 3 de aço CA 25) esterilizados em estufa a  $150^\circ\text{C}$  por 30 minutos, sobre a placa cerâmica, o meio de cultura preparado e o inóculo bacteriano. Esse sistema foi mantido sob agitação constante e temperatura de  $37^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$ , por um período de 30 dias (Figura 14). A aeração foi garantida através de um orifício presente na tampa.

Separou-se ainda dois grupos controles, de composição igual aos meios 1 e 2 descritos acima, sem adição de bactérias.

Decorrido este período os corpos de prova foram enxaguados com água destilada, submetidos a ultrassom, secos com pistola de ar quente e pesados em balança de precisão de 0,00001g à temperatura ambiente. Depois de determinar o valor da perda foi calculada a corrente de corrosão a partir da equação 11.

Figura 14. Interior do dessecador contendo corpos de prova metálicos utilizados para o teste de perda de massa na presença de *E. coli* e *P aeruginosa*.



Fonte: a autora.

### 5.1.3 Perda de massa e cálculo da corrente de corrosão em meio contendo fungos.

Os testes de perda de massa dos aços em meio contendo fungos foram realizados em frascos Erlenmeyer com capacidade de 250 mL, adicionados dos seguintes meios:

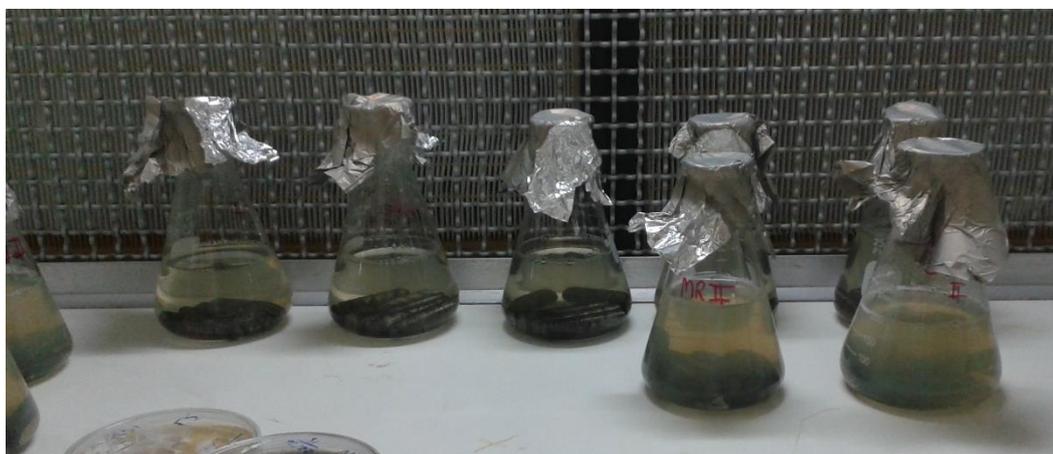
- Meio A (controle): 80% de meio dextrose batata (caldo BD), 15 % de solução de  $\text{Ca(OH)}_2$  saturado e 5% de água destilada. pH final 5,5, ajustado com ácido acético.
- Meio B: por 80 % de meio BDA, 15 % de solução de  $\text{Ca(OH)}_2$  saturado e 5% de solução de quitosana, obtendo-se concentração final de 0,5 g/L de quitosana. pH final 5,5.

Os corpos de prova de aço CA 50 e CA 25 foram esterilizados em estufa a 150° C, por 30 minutos, dispostos no interior dos frascos em triplicata. Após a adição dos meios de cultura, um disco de 7mm de diâmetro de micélio fúngico foi depositado e procedeu-se à incubação em estufa à 25°C  $\pm$  0,5°C, no escuro por 30

dias (Figura 15). A aeração foi garantida através do ajuste do papel alumínio junto à boca do frasco de forma a evitar pressão.

Decorridos os 30 dias de incubação, procedeu-se à autoclavagem dos recipientes (121°C por 15 minutos). Os corpos de prova foram enxaguados com água destilada, submetidos a ultrassom, secos com pistola de ar quente e pesados em balança de precisão de 0,00001g à temperatura ambiente para posterior pesagem e cálculo da corrente de corrosão a partir da equação 11.

Figura 15. Frascos de Erlenmeyer contendo corpos de prova de aço CA 25 e CA 50 para experimento de perda de massa na presença de fungos filamentosos.



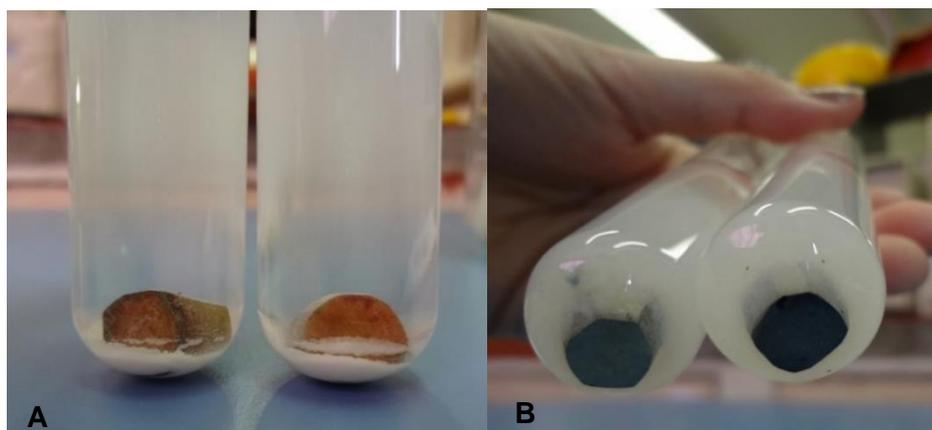
Fonte: a autora.

## 5.2 Resultados para os testes de Perda de massa e cálculo da corrente de corrosão

### 5.2.1 Perda de massa e cálculo da corrente de corrosão na ausência de Microrganismos

Inicialmente utilizou-se testes de perda de massa na ausência dos microrganismos (Figuras 16, A e B) com duração de 30 e 90 dias, obtendo-se a massa inicial e a massa final e sendo calculada a corrente de corrosão (Tabela 6).

Figura 16. Experimento de perda de massa em corpos de prova de aço CA50 imersos em A- Controle, B- 10% de solução de quitosana, aos 30 dias de duração.



Fonte: a autora

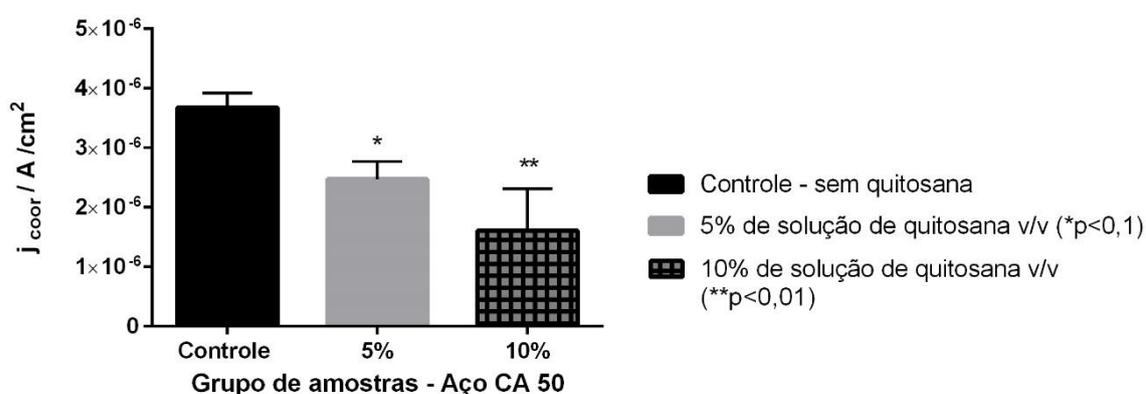
Tabela 6. Valores da perda de massa do aço CA 50 e cálculo da corrente de corrosão obtida, em diversos tratamentos, com 30 e 90 dias.

Tempo	Tratamentos		Massa inicial (g)	Massa final (g)	Perda real (g)	$j$ (A/cm <sup>2</sup> )
30 dias	Controle (solução padrão de Ca(OH) <sub>2</sub> + NaCl)	A	3,27565	3,26751	0,00814	$3,40575 \cdot 10^{-6}$
		B	4,36219	4,35163	0,01056	$3,74112 \cdot 10^{-6}$
		C	2,0815	2,07406	0,00744	$3,88588 \cdot 10^{-6}$
	Solução com 5% de quitosana (v/v).	A	2,09504	2,09002	0,00502	$2,61456 \cdot 10^{-6}$
		B	3,50866	3,50202	0,00664	$2,67434 \cdot 10^{-6}$
		C	2,70718	2,70256	0,00462	$2,13519 \cdot 10^{-6}$
	Solução com 10% de quitosana (v/v).	A	3,55722	3,55295	0,00427	$1,70651 \cdot 10^{-6}$
		B	4,28199	4,27958	0,00241	$8,63566 \cdot 10^{-7}$
		C	1,92834	1,92415	0,00419	$2,26041 \cdot 10^{-6}$
90 dias	Controle	A	3,27565	3,24051	0,03514	$4,90081 \cdot 10^{-6}$
		B	4,36219	4,32594	0,03625	$4,28079 \cdot 10^{-6}$
		C	2,0815	2,05601	0,02549	$4,43777 \cdot 10^{-6}$
	Solução com 5% de quitosana (v/v).	A	2,09504	2,08179	0,01325	$2,30033 \cdot 10^{-6}$
		B	3,50866	3,48843	0,02023	$2,71596 \cdot 10^{-6}$
		C	2,70718	2,69313	0,01405	$2,16446 \cdot 10^{-6}$
	Solução com 10% de quitosana (v/v).	A	3,55722	3,5504	0,00682	$9,08539 \cdot 10^{-7}$
		B	4,28199	3,73282	0,00496	$5,92432 \cdot 10^{-7}$
		C	1,92834	3,69481	0,00866	$1,55729 \cdot 10^{-6}$

Fonte: a autora

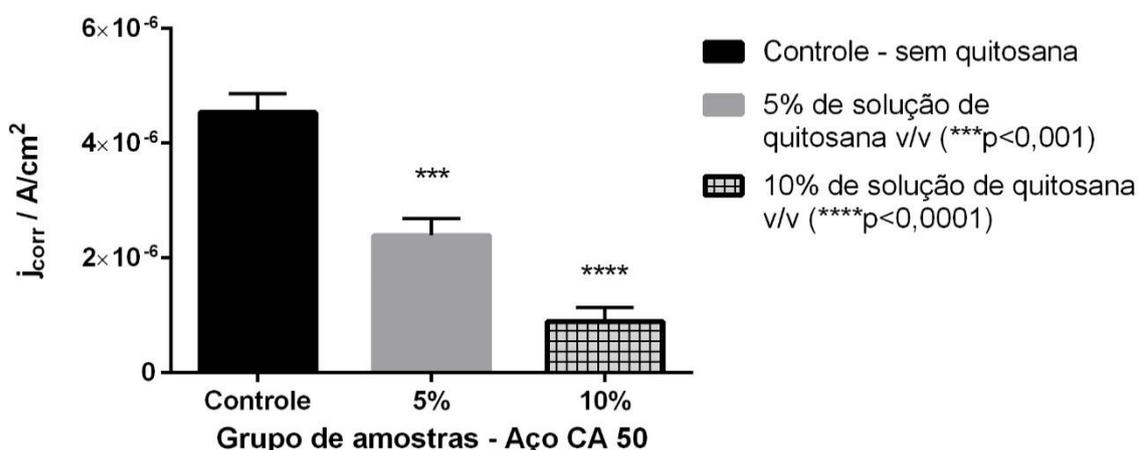
De acordo com o teste t e de Dunnett de comparações múltiplas, com cálculo da média  $\pm$  desvio padrão de três repetições, para a corrente de corrosão do aço CA 50 em 30 dias, os percentuais de 5% e 10% de quitosana apresentaram diferença significativa do controle (sem quitosana) com  $p < 0,1$  e  $p < 0,01$ , ratificando os resultados de Santos-Filho (2010) quanto ao caráter inibidor da quitosana na presença de cloreto (Figura 17). Passados 90 dias de experimento evidenciou-se que o efeito protetor da quitosana foi mais evidenciado (Figura 18).

Figura 17. Corrente de corrosão do aço CA 50 na ausência de microrganismos, em solução saturada de  $\text{Ca(OH)}_2$  com adição de NaCl (3,5%), com diferentes concentrações de quitosana, em 30 dias.



Fonte: a autora.

Figura 18. Corrente de corrosão em aço CA 50 na ausência de microrganismos, em solução saturada de  $\text{Ca(OH)}_2$  com adição de NaCl (3,5%), com diferentes concentrações de quitosana, em 90 dias.



Fonte: a autora.

Para os testes no aço CA 25 (Tabela 7) a presença de quitosana não implicou em diferença significativa na redução da corrente de corrosão em relação ao controle, na presença de cloreto. Obteve-se para o controle e tratamentos com 5% e 10% de quitosana (v/v) uma corrente de corrosão por  $\text{cm}^2$  da ordem de  $2,46 \times 10^{-6}$  A,  $2,5 \times 10^{-6}$  A e de  $2,47 \times 10^{-6}$  A em 90 dias de experimento, respectivamente (Figura 19).

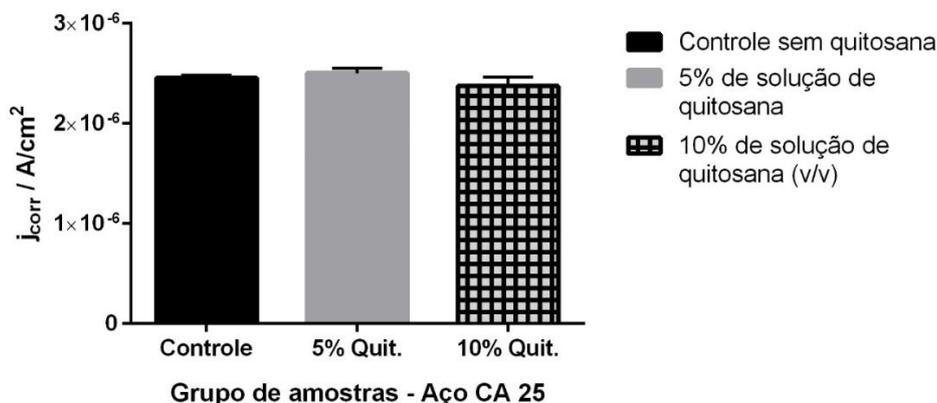
**Tabela 7. Valores da perda de massa do aço CA 25 e cálculo da corrente de corrosão obtida em diversos tratamentos, com 90 dias.**

Tempo	Tratamentos		Massa inicial (g)	Massa final (g)	Perda real (g)	j (A/cm <sup>2</sup> )
90 dias	Controle (solução padrão Ca(OH) <sub>2</sub> NaCl)	A	21,97149	21,89939	0,07210	$2,44394 \cdot 10^{-6}$
		B	22,35900	22,28589	0,07311	$2,43989 \cdot 10^{-6}$
		C	22,74501	22,66944	0,07557	$2,48377 \cdot 10^{-6}$
	Solução com 5% quitosana (v/v).	A	21,79373	21,72005	0,07368	$2,5156 \cdot 10^{-6}$
		B	22,17256	22,09690	0,07566	$2,5439 \cdot 10^{-6}$
		C	22,24710	22,17395	0,07315	$2,45216 \cdot 10^{-6}$
	Solução com 10% quitosana (v/v).	A	22,07466	22,00270	0,07196	$2,42905 \cdot 10^{-6}$
		B	22,76215	22,69301	0,06914	$2,27091 \cdot 10^{-6}$
		C	22,19278	22,12065	0,07213	$2,42324 \cdot 10^{-6}$

Fonte: a autora

Destaca-se a significância estatística dos resultados obtidos tanto dentro de cada grupo como entre os grupos já que a dispersão anotada entre os vários resultados foi sempre inferior a 1%.

Figura 19. Corrente de corrosão em aço CA 25 ausência de microrganismos, em solução saturada de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  com adição de  $\text{NaCl}$  (3,5%), com diferentes concentrações de quitosana, em 90 dias.



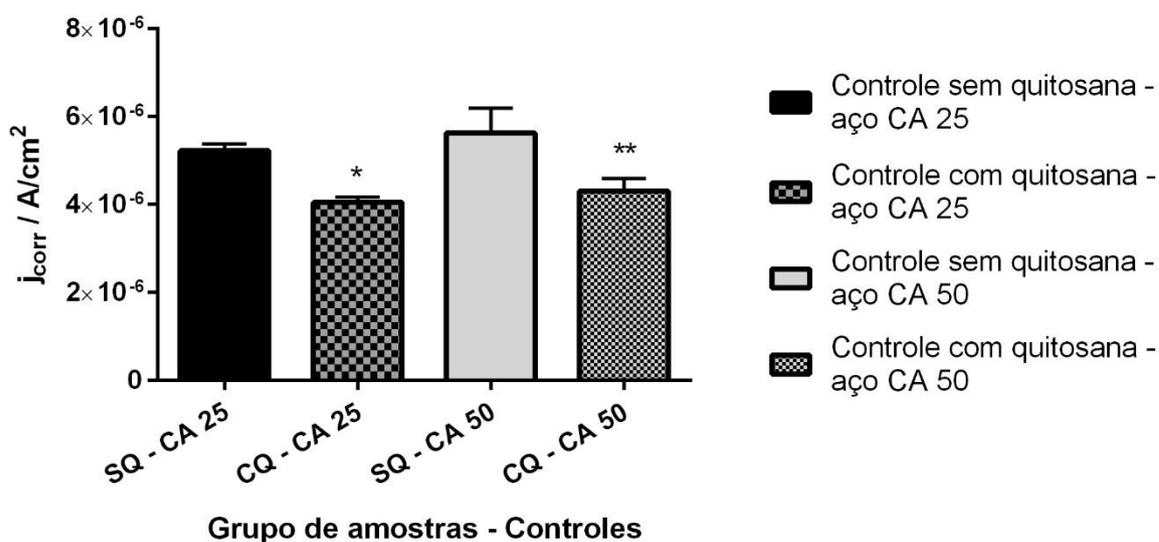
Fonte: a autora.

### 5.2.2 Perda de massa e cálculo da corrente de corrosão do aço carbono na presença de microrganismos.

Após os testes de perda de massa sem adição de microrganismos, padronizou-se a utilização da quitosana na concentração de 0,5 g/L em emulsão, para utilização nos meios de cultura onde seriam adicionados os microrganismos estudados.

Os dois controles sem microrganismos utilizados nestes testes indicaram que os aços CA 25 e CA 50 são igualmente susceptíveis à corrosão em meio de cultura AN contendo cloreto. Também se observa que, a diferença entre os valores da corrente de corrosão entre os tratamentos com e sem quitosana para ambos os aços testados apresentam diferença significativa quando comparados entre si, no período de tempo de analisado (\* $p < 0,1$  e \*\* $p < 0,01$ ) (Figura 20). Pode-se afirmar que a presença da quitosana em um período de 30 dias influenciou positivamente na proteção do aço carbono no meio testado, reduzindo a corrente de corrosão da ordem de 20-25%, em relação ao tratamento sem quitosana.

Figura 20. Corrente de corrosão dos aços CA 25 e CA 50 (média  $\pm$  desvio padrão) na ausência de microrganismos (controles) em meio de cultura nutriente contendo solução saturada de  $\text{Ca(OH)}_2$  em 30 dias.



Fonte: a autora.

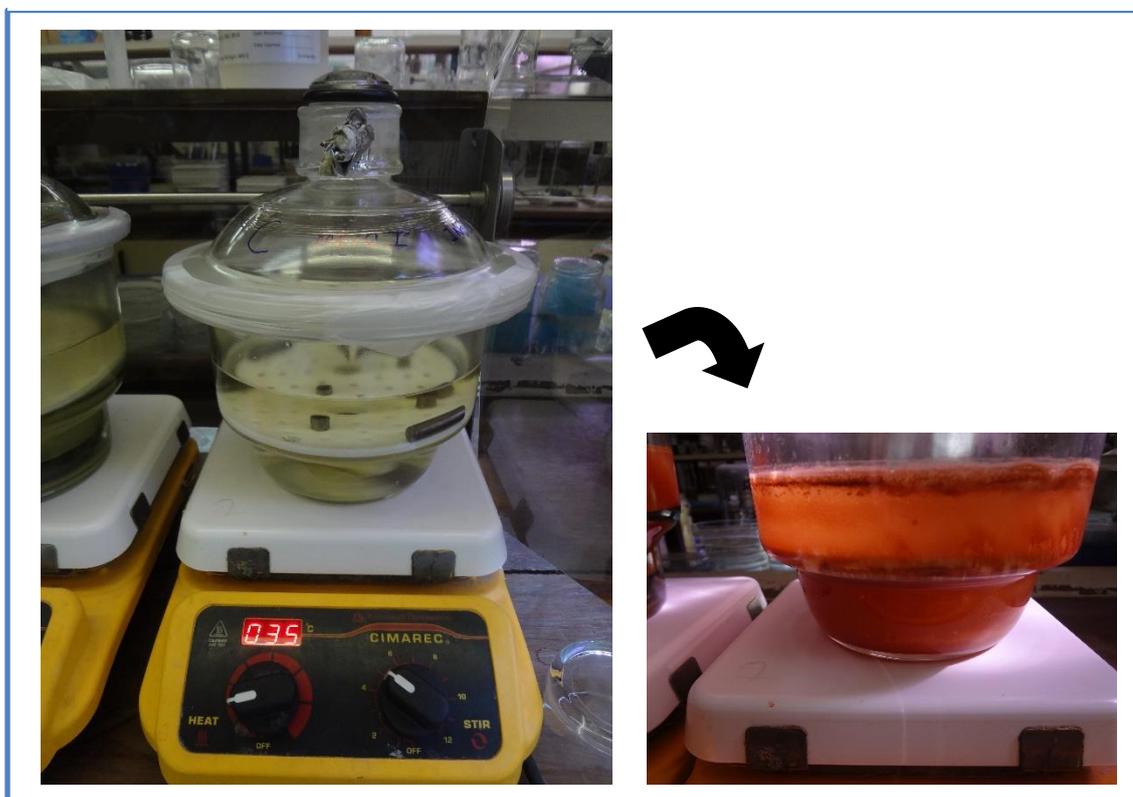
### 5.2.2.1 Perda de massa e cálculo da corrente de corrosão do aço carbono em meio de cultura contendo solução saturada de $\text{Ca(OH)}_2$ na presença de bactérias.

#### a. *E. coli*

Durante o decorrer dos 30 dias de experimento observou-se um ativo crescimento de *E. coli* e formação de depósitos nas paredes do recipiente de incubação, provavelmente provenientes da decomposição do ferro e produção de biofilmes (Figura 21).

A adição de *E. coli* implicou no aumento das correntes de corrosão tanto no aço CA 25 quanto CA 50, independente da presença de quitosana. A adição da quitosana ao meio de cultura contendo *E. coli* apresentou efeito promotor de corrosão, com diferença significativa entre o tratamento sem e com quitosana de acordo com o teste t, para o aço CA 25 e CA 50 (Figura 22).

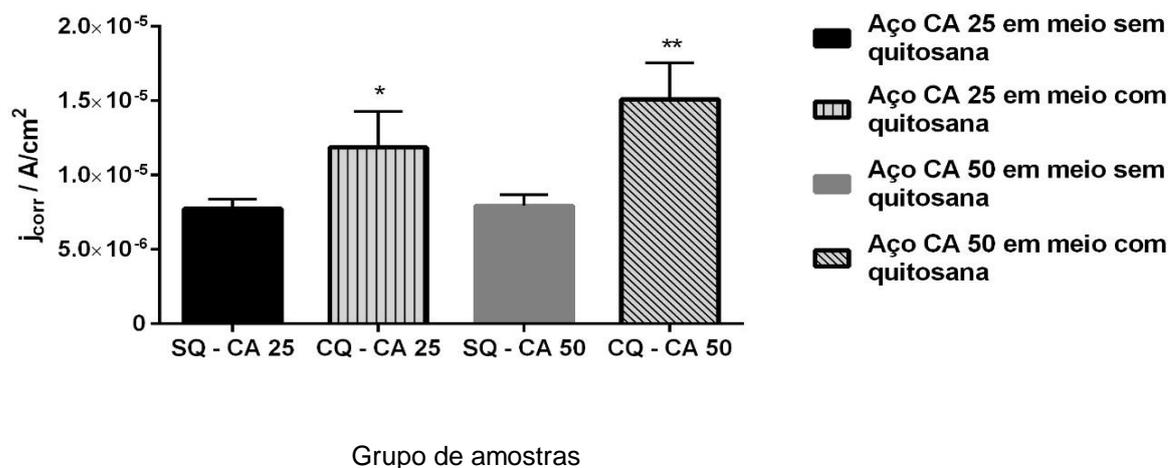
Figura 21. Experimento de perda de massa em meio de cultura nutriente contendo *E. coli*. Início, à esquerda e fim do experimento, à direita.



Fonte: a autora

A capacidade de *E. coli* crescer em meio com quantidade de quitosana igual à utilizada no experimento foi comprovada pelo teste de crescimento deste microrganismo em meio mínimo, onde a fonte de carbono foi substituída por quitosana. Infere-se a partir daí que a pequena quantidade de quitosana no meio ajudou a promover o crescimento desta bactéria. Pode-se avaliar que tal resultado deu-se em decorrência do pH encontrar-se próximo a neutralidade (6,5). O pH dos meios de cultura utilizados nos testes com bactérias precisou se manter próximo ao neutro para que o seu crescimento não fosse inibido pelo meio ácido.

Figura 22. Corrente de corrosão do aço CA 25 e CA 50 (média  $\pm$  desvio padrão), em meio CN com e sem quitosana, contendo *E. coli* por 30 dias.



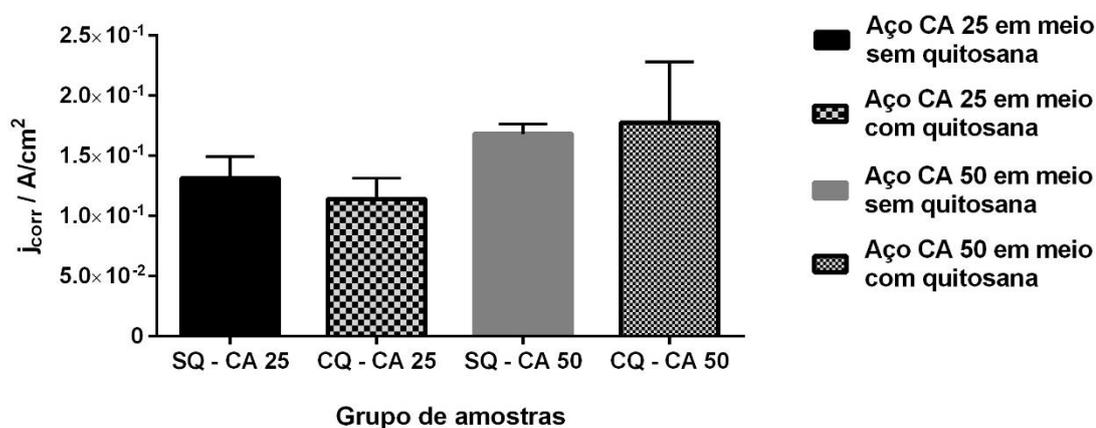
Fonte: a autora.

Moraes (2008) demonstrou um aumento no potencial de corrosão em aço AISI 316, na presença de *E. coli* em meio de  $Na_2SO_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  nos valores de pH 6,0 e 8,0.

- *P. aeruginosa*

Comparando os meios com microrganismos observa-se que não houve diferença estatística entre a corrosão verificada nos dois tratamentos avaliados contendo *P. aeruginosa* (Figura 23).

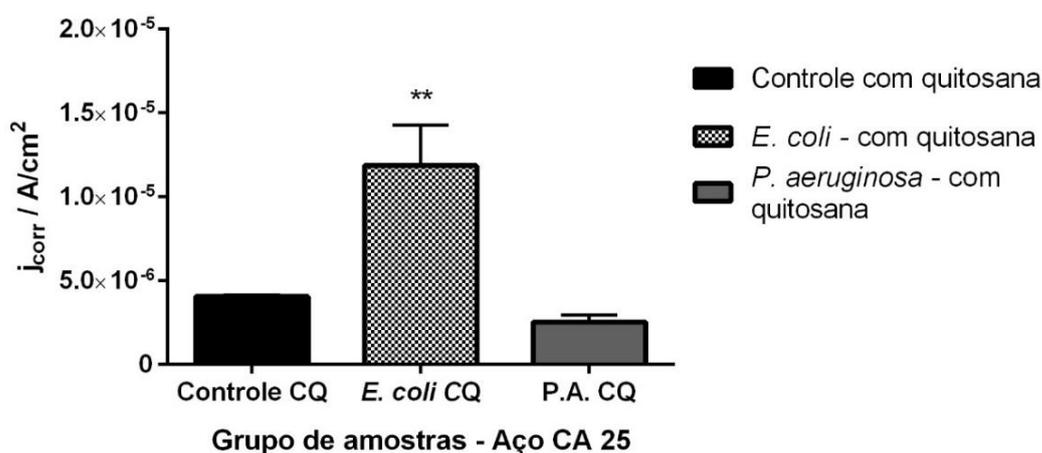
Figura 23. Corrente de corrosão do aço CA 25 e CA 50 (média  $\pm$  desvio padrão), em meio CN com e sem quitosana contendo *P. aeruginosa* em 30 dias.



Fonte: a autora.

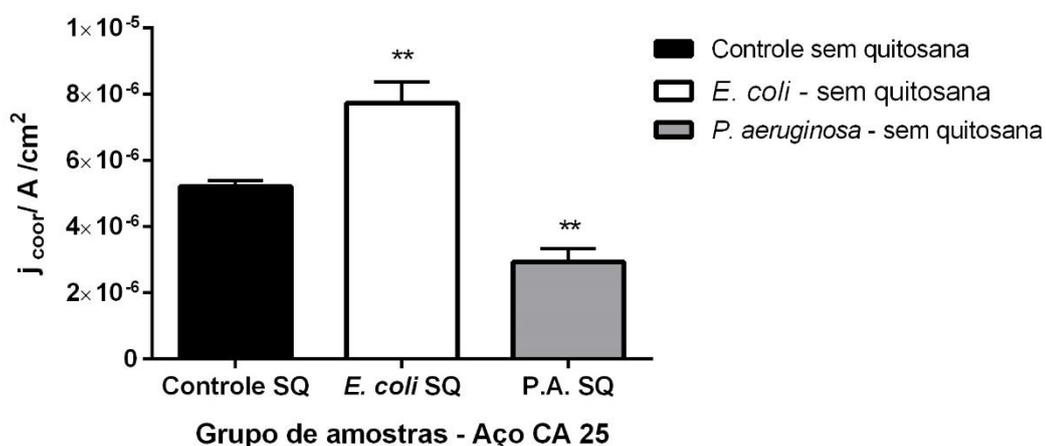
Em ambos os casos, a presença de *P. aeruginosa* não influenciou na corrosão do aço carbono CA 25 e CA 50 apresentando comportamento semelhante ao do controle para o tratamento com quitosana e com uma perda significativamente inferior que os controles na ausência de quitosana no período de tempo avaliado (Figuras 24, 25, 26 e 27). A literatura cita *P. aeruginosa* como microrganismo importante na formação de biofilmes e corrosão de tubulações de aço, o que não foi observado neste ensaio (EMDE et. al.,1992; MURRAY et al., 2003).

Figura 24. Corrente de corrosão do aço CA 25 (média  $\pm$  desvio padrão) em meio CN. Meio com adição de quitosana, contendo *E. coli* e *P. aeruginosa* em comparação ao controle no período de 30 dias.



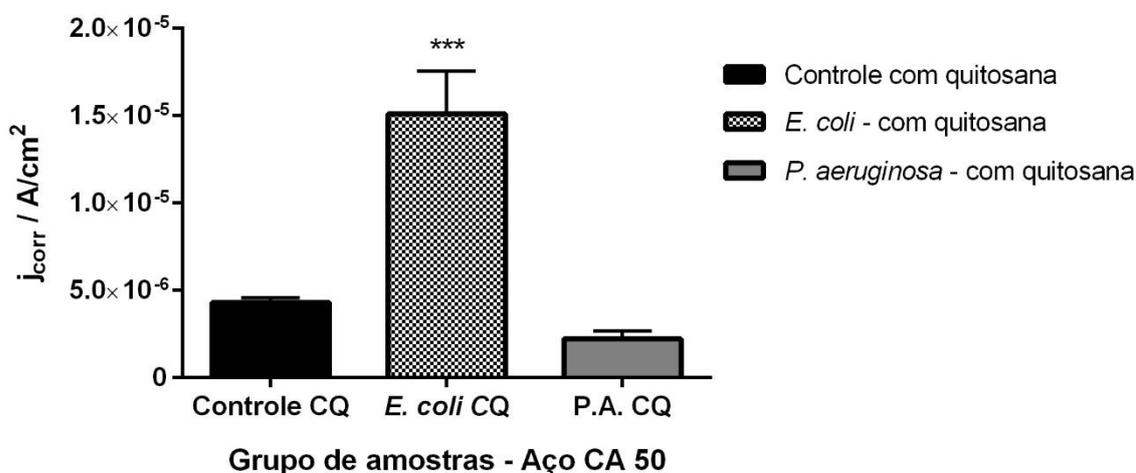
Fonte: a autora

Figura 25. Corrente de corrosão do aço CA 25 (média  $\pm$  desvio padrão) em meio CN. Meio sem adição de quitosana, contendo *E. coli* e *P. aeruginosa* em comparação ao controle no período de 30 dias.



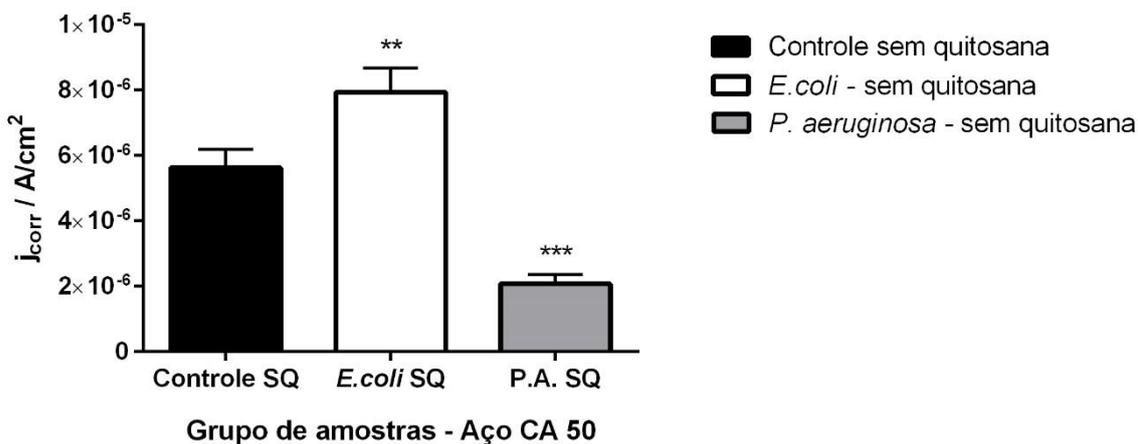
Fonte: a autora.

Figura 26. Corrente de corrosão do aço CA 50 (média  $\pm$  desvio padrão), em meio CN. Meio com adição de quitosana contendo *E. coli* e *P. aeruginosa* em comparação ao controle no período de 30 dias.



Fonte: a autora.

Figura 27. Corrente de corrosão do aço CA 50 (média  $\pm$  desvio padrão) em meio CN. Meio sem adição de quitosana, contendo *E. coli* e *P. aeruginosa* em comparação ao controle no período de 30 dias.



Fonte: a autora.

De acordo com as Figuras 24 a 27 pode-se observar a comparação entre a corrente de corrosão em meios contendo as duas bactérias estudadas. Observa-se que *E. coli* proporciona significativo aumento das correntes de corrosão no aço

carbono, e de forma mais intensa na presença da quitosana, no meio investigado. Por sua vez, *P. aeruginosa* não apresentou diferença significativa de corrente de corrosão do aço carbono na presença de quitosana. Surpreende, por outro lado, a supressão da corrente de corrosão pela *P. aeruginosa*, no meio estudado, quando na ausência de quitosana em relação ao meio de cultura sem microrganismo, ou seja, ela atua por si própria como inibidora de corrosão, da ordem de 50% (Tabela 8).

**Tabela 8. Valores da corrente de corrosão do aço CA 25 e CA 50 em meio AN, na ausência e presença das bactérias *E. coli* e *P. aeruginosa* com 30 dias.**

Aços	Tratamentos		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
		Sem microrganismos		
CA 25	Sem Quitosana	$5,22 \cdot 10^{-6}$	$7,73 \cdot 10^{-6}$	$2,93 \cdot 10^{-6}$
	Com Quitosana	$4,57 \cdot 10^{-6}$	$1,18 \cdot 10^{-5}$	$2,54 \cdot 10^{-6}$
CA 50	Sem Quitosana	$5,62 \cdot 10^{-6}$	$7,93 \cdot 10^{-6}$	$2,08 \cdot 10^{-6}$
	Com Quitosana	$4,30 \cdot 10^{-6}$	$1,51 \cdot 10^{-5}$	$2,22 \cdot 10^{-6}$

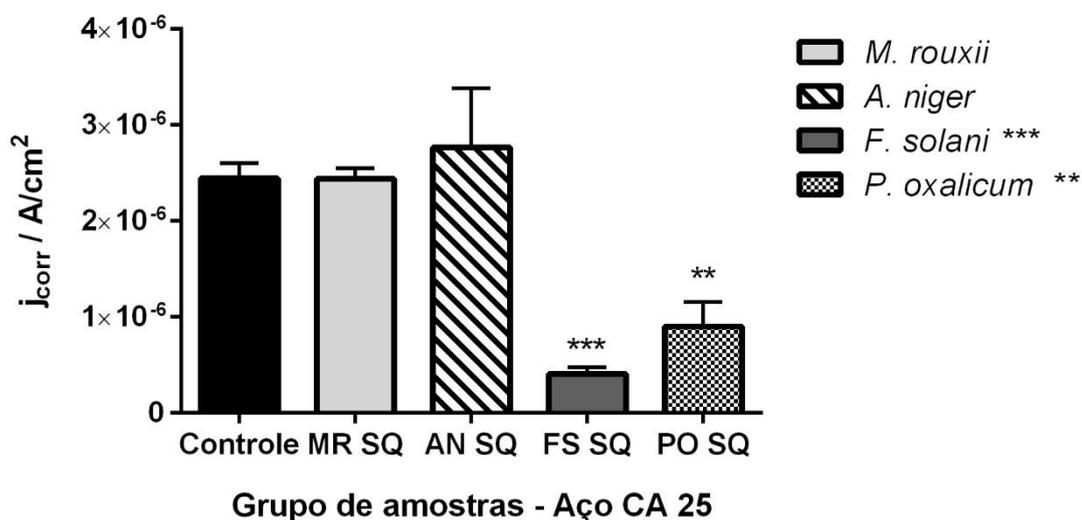
Fonte: a autora

#### 5.2.2.2 Perda de massa e cálculo da corrente de corrosão do aço carbono em meio de cultura contendo solução saturada de $\text{Ca(OH)}_2$ na presença de fungos.

Nas figuras 28 e 29 observam-se a comparação da corrosão ocorrida nos aços CA 25 e CA 50, respectivamente, em meio BD, na presença dos fungos filamentosos estudados.

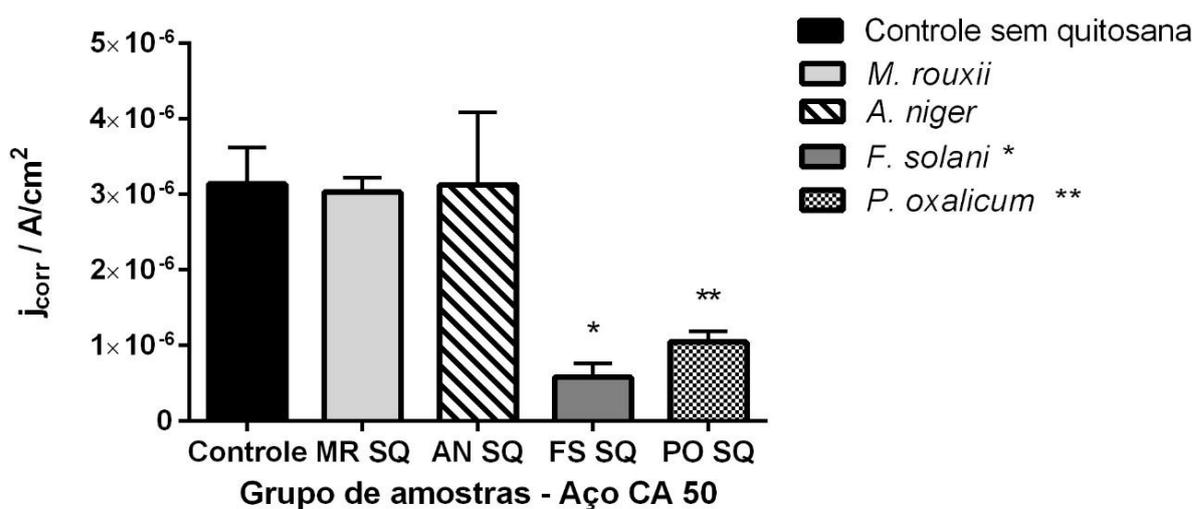
Nota-se que o comportamento dos aços em questão é semelhante para os tratamentos sem quitosana. Neste tratamento *M. rouxii* e *A. niger* apresentaram comportamento semelhante ao controle, não sendo possível afirmar que sua presença, ou a de seus metabólitos está relacionada à corrosão do aço CA 25 e CA 50 em meio de cultura.

Figura 28. Corrente de corrosão do aço CA 25 (média  $\pm$  desvio padrão) em meio BD (pH 5,5). Meio sem adição de quitosana, contendo fungos filamentosos em comparação ao controle no período de 30 dias.



Fonte: a autora

Figura 29. Corrente de corrosão do aço CA 50 (média  $\pm$  desvio padrão) em meio BD (pH 5,5). Meio sem adição de quitosana, contendo fungos filamentosos em comparação ao controle no período de 30 dias.

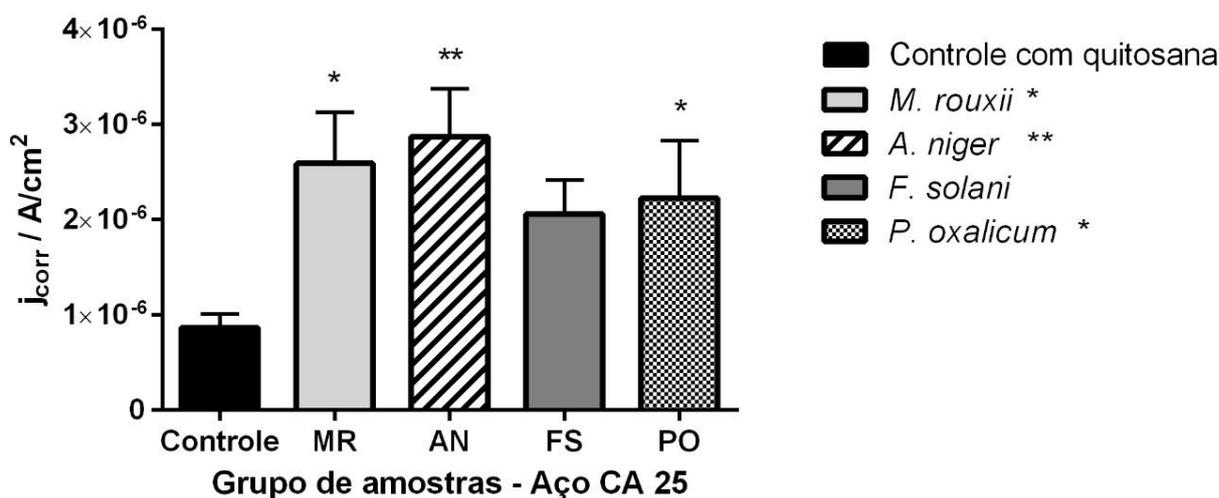


Fonte: a autora.

*F. solani* e *P. oxalicum* apresentaram diferenças significativas na corrente de corrosão com relação ao controle, ou seja, são supressores/inibidores de corrosão do aço carbono na ausência de quitosana. Para *F. solani* obteve-se significância de  $***p < 0,001$  e  $**p < 0,01$ , respectivamente para os aços CA 25 e CA 50. Já para *P. oxalicum* os valores de p foram da ordem de  $**p < 0,01$ , para os aços CA 25 e CA 50, de acordo com a ANOVA e teste t.

Para os meios contendo quitosana (Figura 30) *M. rouxii*, *A. niger* e *P. oxalicum* apresentaram comportamento corrosivo estatisticamente significativo de acordo com ANOVA, em aço CA 25. Para este mesmo aço, a diferença entre *F. solani* e o controle não foi estatisticamente significativa apesar de apresentar valores superiores de corrente de corrosão, sendo aproximadamente o dobro do verificado na ausência.

Figura 30. Corrente de corrosão do aço CA 25 (média  $\pm$  desvio padrão) em meio BD (pH 5,5). Meio com adição de quitosana, contendo fungos filamentosos em comparação ao controle no período de 30 dias.



Fonte: a autora

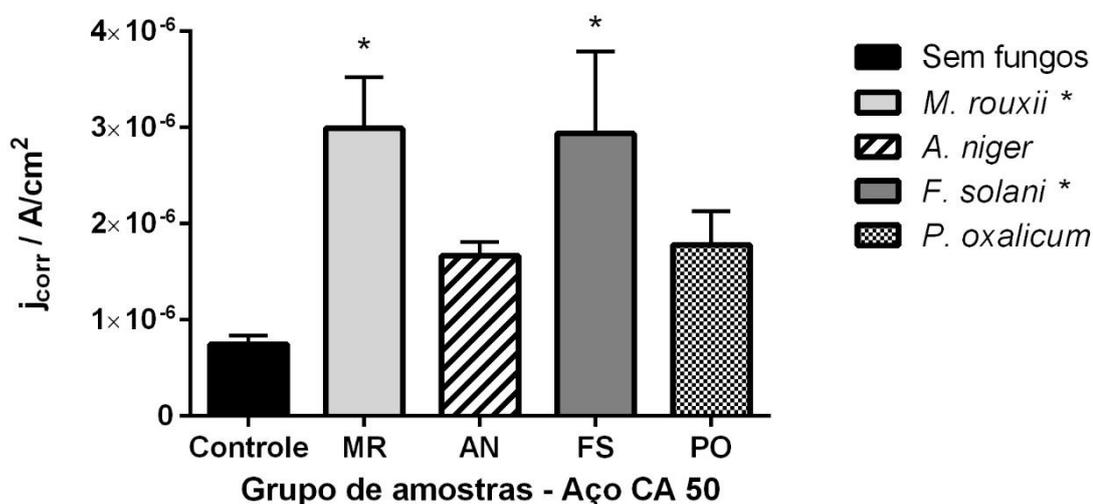
Para o aço CA 50 (Figura 31) observa-se novamente um aumento da atividade corrosiva na presença da quitosana e fungos filamentosos, porém, os que

apresentaram diferenças significativas no aumento da corrente de corrosão foram *M. rouxii* e *F. solani*. Já *A. niger* e *P. oxalicum* não provocaram mudanças significativas na corrosividade do meio.

Considerando que os valores de corrente de corrosão encontrados para ambos os aços na presença das espécies fúngicas estudadas são todos superiores ao controle, infere-se que a presença da quitosana no meio de cultura acentuou a produção de metabólitos fúngico, afetando diretamente a corrosão.

Em teste realizado para crescimento em meio mínimo foi comprovado que todos os fungos utilizados neste estudo são capazes de utilizar a quitosana como fonte de carbono para seu crescimento na concentração utilizada nestes experimentos (Apêndice 1).

Figura 31. Corrente de corrosão do aço CA 50 (média  $\pm$  desvio padrão) em meio BD (pH 5,5). Meio com adição de quitosana, contendo fungos filamentosos em comparação ao controle no período de 30 dias.

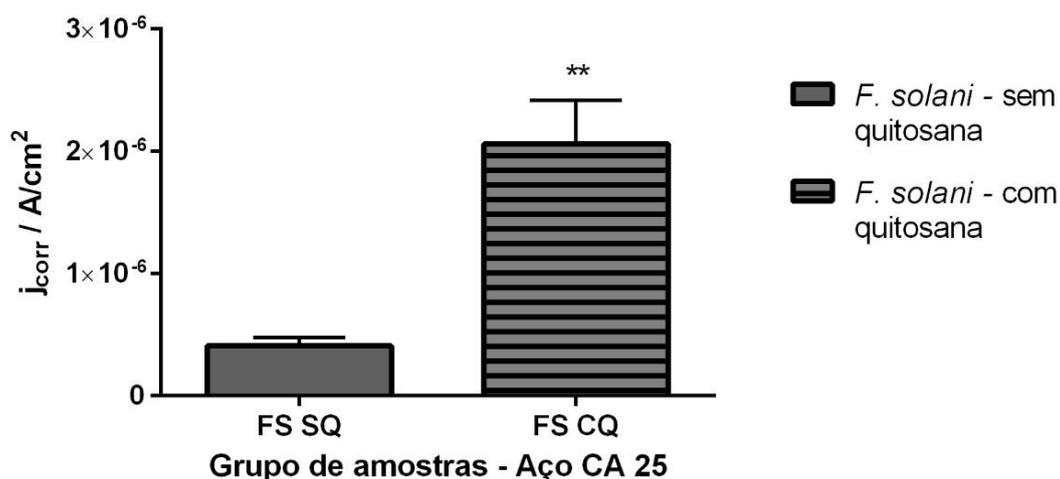


Fonte: a autora

Fazendo a comparação direta das espécies fúngicas entre a real significância das diferenças de valores da corrente de corrosão na presença e ausência de quitosana, de acordo com o teste t pareado, pôde-se constatar que em relação ao aço CA 25 houveram diferenças significativas entre os tratamentos com

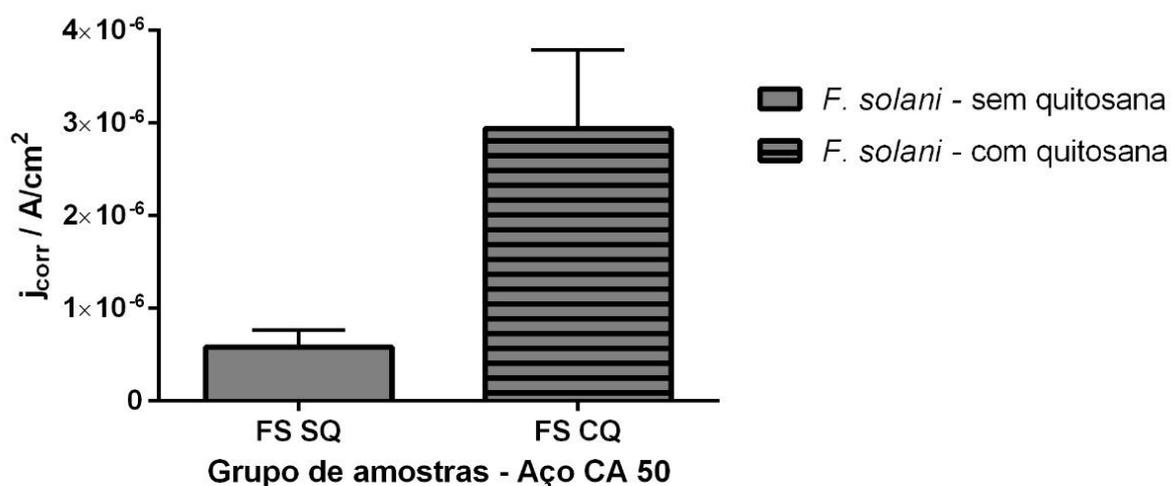
*F. solani* (Figura 32) e *P. oxalicum* (Figura 34). No tratamento CA 50 não houveram diferenças significativa para *F. solani* (Figura 33), *P. oxalicum* (Figura 35), *M. rouxii* (Figura 37) e *A. niger* (Figura 39).

Figura 32. Comparativo entre a corrente de corrosão do aço CA 25 (média  $\pm$  desvio padrão) em meio BD (pH 5,5) na presença de *F. solani* em meio sem quitosana e com adição de quitosana no período de 30 dias.



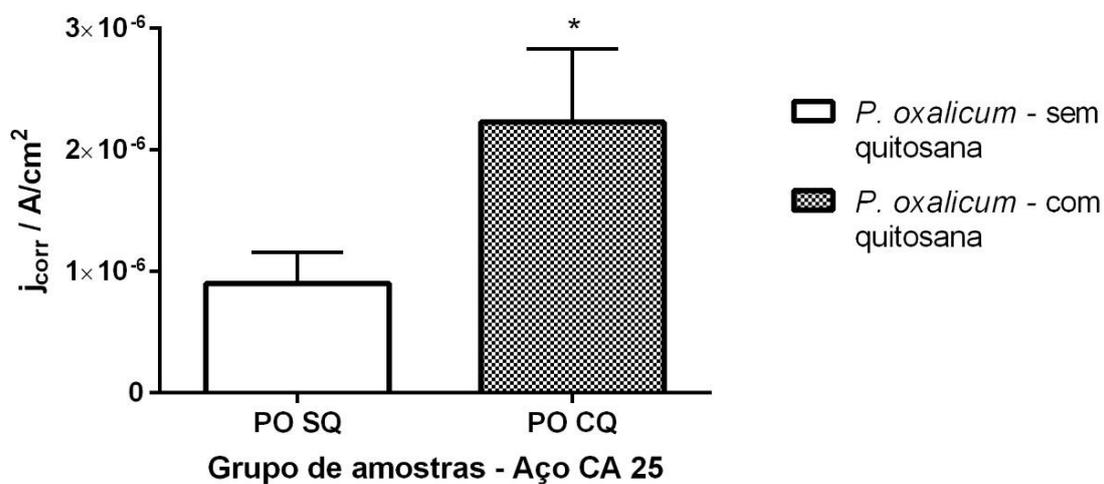
Fonte: a autora.

Figura 33. Comparativo entre a corrente de corrosão do aço CA 50 (média  $\pm$  desvio padrão) em meio BD (pH 5,5) na presença de *F. solani* em meio sem quitosana e com adição de quitosana no período de 30 dias.



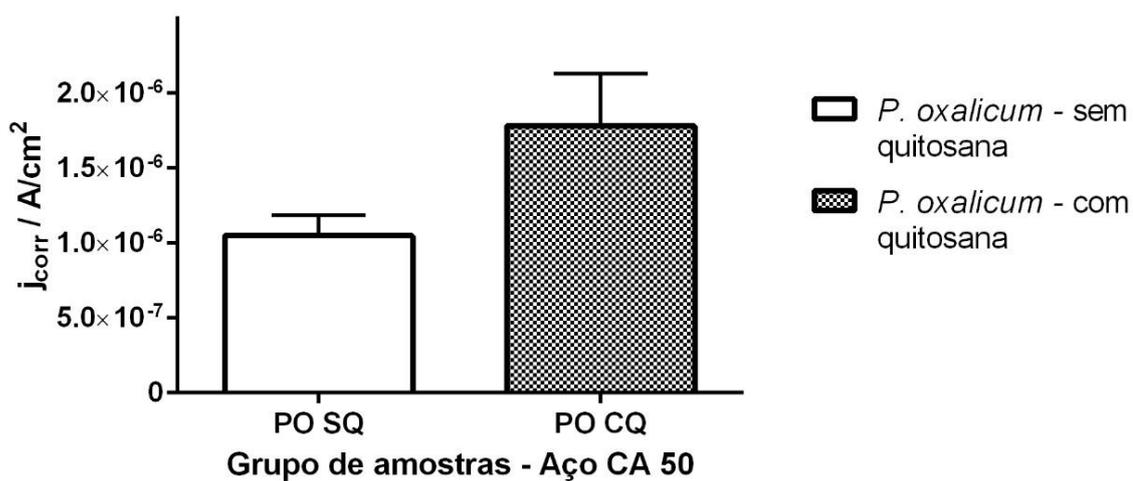
Fonte: a autora.

Figura 34. Comparativo entre a corrente de corrosão do aço CA 25 (média  $\pm$  desvio padrão) em meio BD (pH 5,5) na presença de *P. oxalicum* em meio sem quitosana e com adição de quitosana no período de 30 dias.



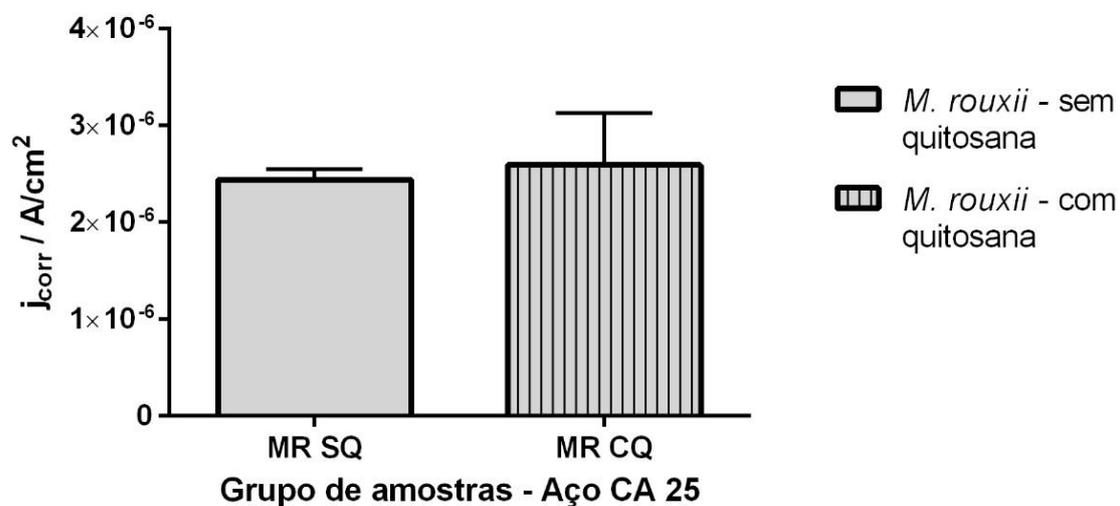
Fonte: a autora.

Figura 35. Comparativo entre a corrente de corrosão do aço CA 50 (média  $\pm$  desvio padrão) em meio BD (pH 5,5) na presença de *P. oxalicum* em meio sem quitosana e com adição de quitosana no período de 30 dias.



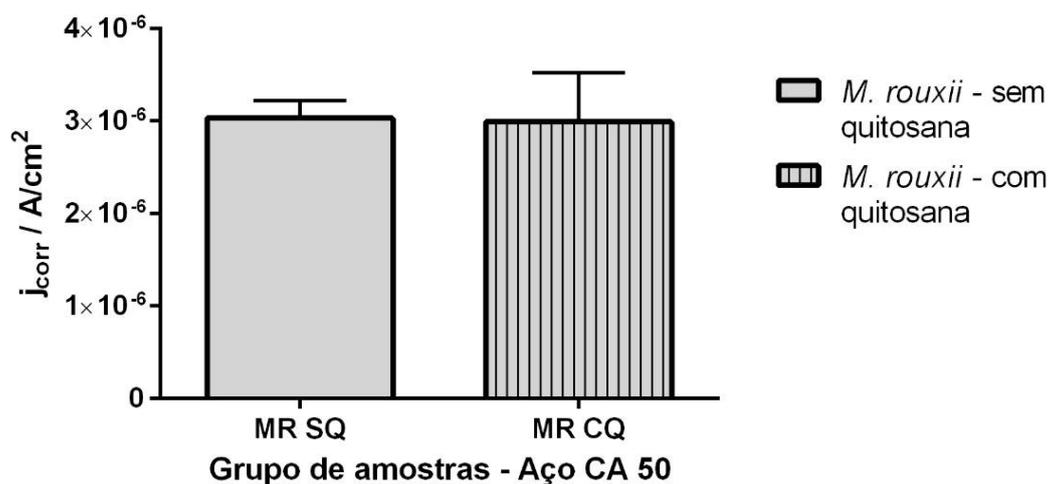
Fonte: a autora.

Figura 36. Comparativo entre a corrente de corrosão do aço CA 25 (média  $\pm$  desvio padrão) em meio BD (pH 5,5) na presença de *M. rouxii* em meio sem quitosana e com adição de quitosana no período de 30 dias.



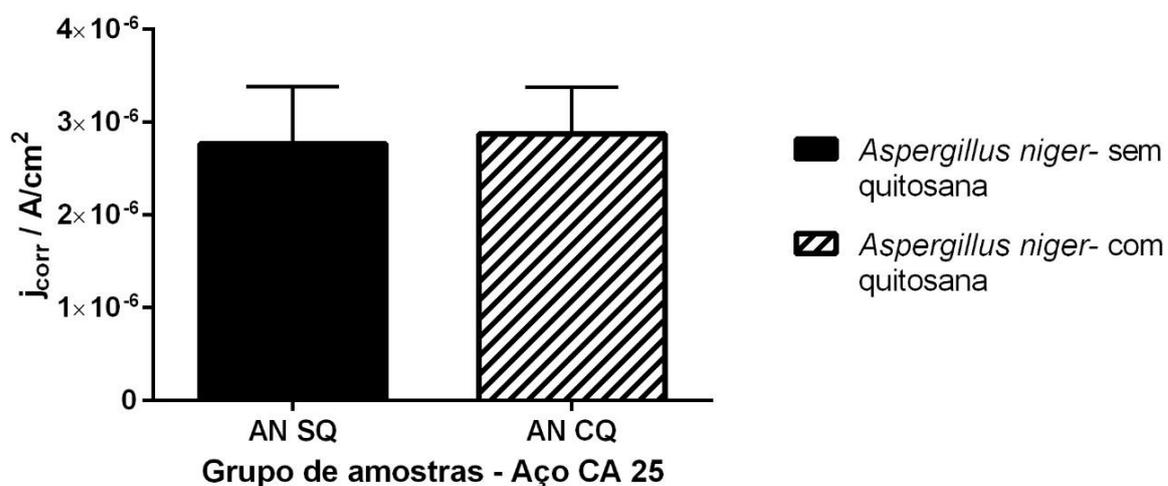
Fonte: a autora.

Figura 37. Comparativo entre a corrente de corrosão do aço CA 50 (média  $\pm$  desvio padrão) em meio BD (pH 5,5) na presença de *M. rouxii* em meio sem quitosana e com adição de quitosana no período de 30 dias.



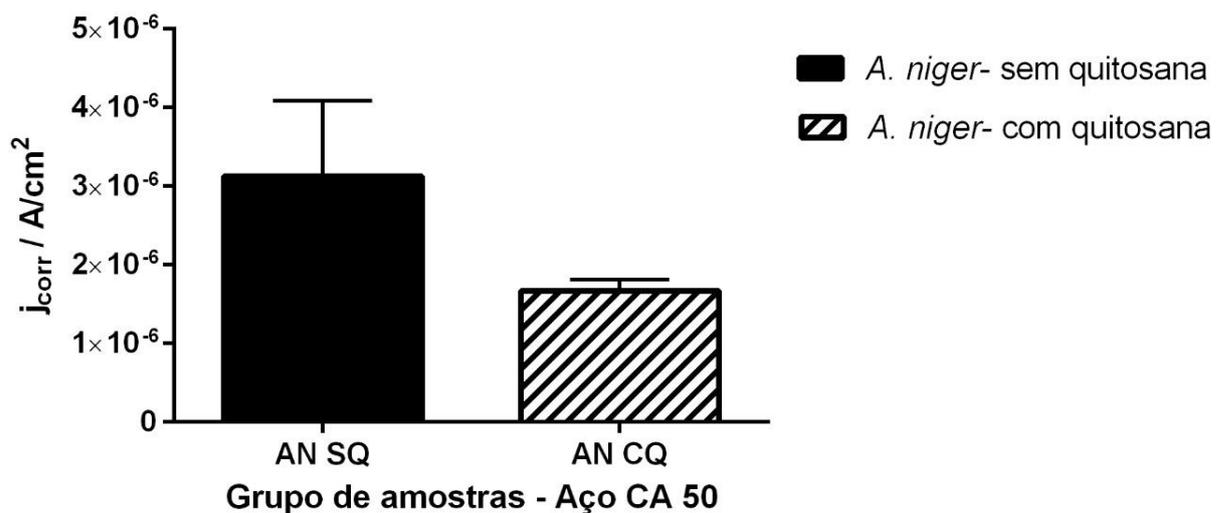
Fonte: a autora.

Figura 38. Comparativo entre a corrente de corrosão do aço CA 25 (média  $\pm$  desvio padrão) em meio BD (pH 5,5) na presença de *A. niger* em meio sem quitosana e com adição de quitosana no período de 30 dias.



Fonte: a autora.

Figura 39. Comparativo entre a corrente de corrosão do aço CA 50 (média  $\pm$  desvio padrão) em meio BD (pH 5,5) na presença de *A. niger* em meio sem quitosana e com adição de quitosana no período de 30 dias.



Fonte: a autora.

Em suma, análise de perda de massa revela que os fungos filamentosos provocam aumento bastante intenso nas correntes de corrosão do aço carbono no meio de BD em presença da quitosana. Por outro lado, surpreenderam os resultados obtidos para o *F. solani* e *P. oxalicum* na ausência de quitosana, pois são estatisticamente apontados como inibidores de corrosão, com supressão da  $i_{corr}$  da ordem de 70 a 80%. A exceção foi apontada para o *M. rouxii*, que não apresentou diferenças significativas de comportamento na presença de quitosana.

## 6 MEDIDA DA DIFERENÇA DE POTENCIAL (DDP)

---

A DDP é a diferença de potencial entre os eletrodos que significa o potencial necessário para que ocorra a reação de oxirredução, neste caso, a oxidação do corpo de prova.

As medidas da DDP foram feitas utilizando um multímetro digital portátil MD-390 Instrutherm®, de 4 ½ dígitos, de elevada impedância, com resolução de 0,0001 V. Como cátodo foi utilizado um fio de prata. Considerando que todas as soluções possuem uma concentração constante de cloreto esse fio de prata atua como eletrodo de referência de Ag/AgCl.

### 6.1 Metodologia para as medidas da DDP em corpos de prova de aço imersos em concreto

Os corpos de prova de aço e concreto foram depositados no interior de recipientes de plástico, 4 por recipiente, sendo 2 com quitosana aplicada no traço do concreto e dois sem quitosana (Figura 40). Os recipientes foram preenchidos com 800 mL de Caldo (meio líquido) Batata Dextrose (BD), no caso dos fungos e Caldo Nutriente (CN) para as bactérias, tampado e envoltos em plástico filme para diminuir a evaporação. Na tampa do recipiente foram feitas quatro perfurações que permitiam o contato das pontas de prova do multímetro com os corpos de prova e uma perfuração central para a inserção do eletrodo de Ag/AgCl.

Os recipientes foram mantidos por um período de 30 dias sob agitador magnético com temperatura regulada em  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  para as bactérias e a temperatura ambiente,  $\pm 25^{\circ}\text{C}$ , para os fungos. Nos recipientes reservados para as bactérias foi depositado um inóculo de  $10^7$  células. Nos reservados aos fungos, foram depositados discos de micélio de 1,0 cm de diâmetro. As medidas foram tomadas a cada 3,5 dias.

Figura 40. Experimento utilizando os corpos de prova de concreto.



Fonte: a autora

## 6.2 Metodologia para as medidas da DDP em corpos de prova de aço CA 25 e CA 50.

Os corpos de prova de aço CA 50 e CA 25, cortados em hastes de 5 cm de comprimento foram encaixados nas tampas dos recipientes de plástico sendo 6 por recipiente (Figura 41) de modo a deixar 1,0 cm de sua extremidade posterior fora do recipiente para servir de área de contato com as pontas de prova do multímetro. Os recipientes foram preenchidos com 400 mL de caldo BD, semelhante ao utilizado nos testes de perda de massa, tampado e envoltos em plástico filme para diminuir a evaporação, sem entando, atrapalhar a aeração. Na tampa do recipiente foram feitas duas perfurações que permitiram a inserção do eletrodo de prata, e sua conexão ao multímetro.

Cada microrganismo foi inoculado em dois recipientes (recipientes plásticos) que continham os seguintes meios:

- Meio 1: 85% de caldo BD, 10% de solução de  $\text{Ca(OH)}_2$  saturado e 5% de água destilada. pH final 5,5;
- Meio 2: 85% de caldo BD, 10 mL de solução de  $\text{Ca(OH)}_2$  saturado e 5% de solução de quitosana, obtendo-se uma concentração final de 0,5 g/L de quitosana na composição. pH final 5,5.

Um controle, sem microrganismos, foi mantido durante todo o experimento.

Figura 41. Testes de DDP com fungos filamentosos.



Fonte: a autora.

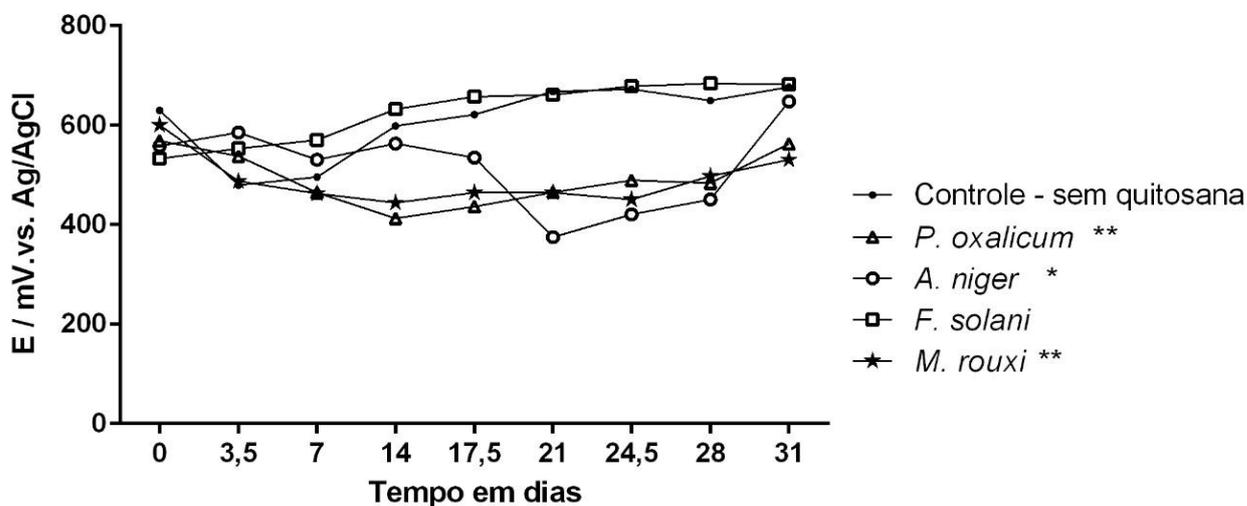
## 6.3 Resultados da Medidas de Diferença de Potencial – DDP

### 6.3.1 Medidas de DDP em corpos de prova de aço CA 25 e CA 50.

Os testes de DDP envolvendo apenas eletrodos de aço CA 25 e CA50 foram realizados num período de 31 dias.

Para ambos os aços utilizados vê-se que o comportamento deles em relação ao potencial é bem semelhante (Figuras 42 e 43), o que permitiu a escolha de apenas um deles (CA 25) para a confecção dos eletrodos de aço e concreto.

Figura 42. Medidas de DDP em corpos de prova de aço carbono CA 25 imersos em meio BD (pH 5,5), sem quitosana, na presença de fungos filamentosos em 31 dias



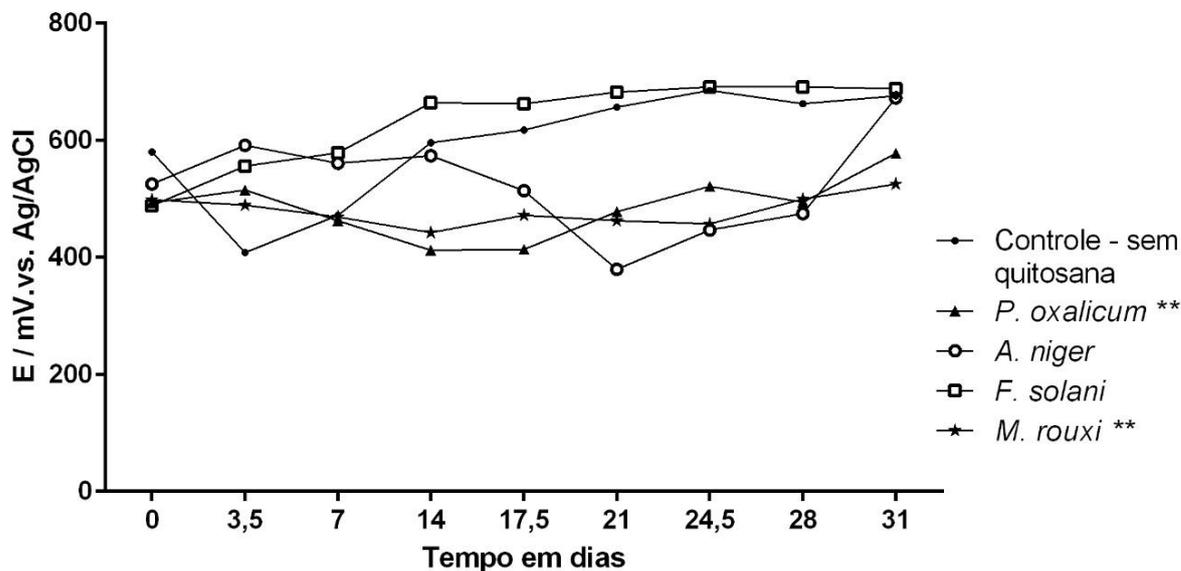
Fonte: a autora.

As medidas foram feitas em triplicata, de onde foi calculada a média e a significância de acordo com o teste t de Student e teste de Dunnett. Observa-se que para o meio sem quitosana temos uma diferença em relação ao controle para *P. oxalicum* (\*\* $p < 0,01$ ), *A. niger* (\* $p < 0,1$ ) e *M. rouxi* (\*\* $p < 0,01$ ). *F. solani* não apresentou diferença estatística em relação ao controle no aço CA 25.

Para o aço CA 50 (Figura 43) houve diferença significativa nos valores obtidos em relação ao controle na presença de *P. oxalicum* (\*\* $p < 0,01$ ) e *M. rouxi* (\*\* $p < 0,01$ ). *A. niger* e *F. solani* não apresentaram diferença estatística significativa.

Apesar de não apresentar diferença estatisticamente significativa, observa-se que os valores médios de *F. solani* estão sempre alguns mV mais anódicos que o controle na ausência de quitosana. Este resultado vai em favor do estudo de perda de massa que revela o caráter inibidor deste microrganismo na ausência de quitosana.

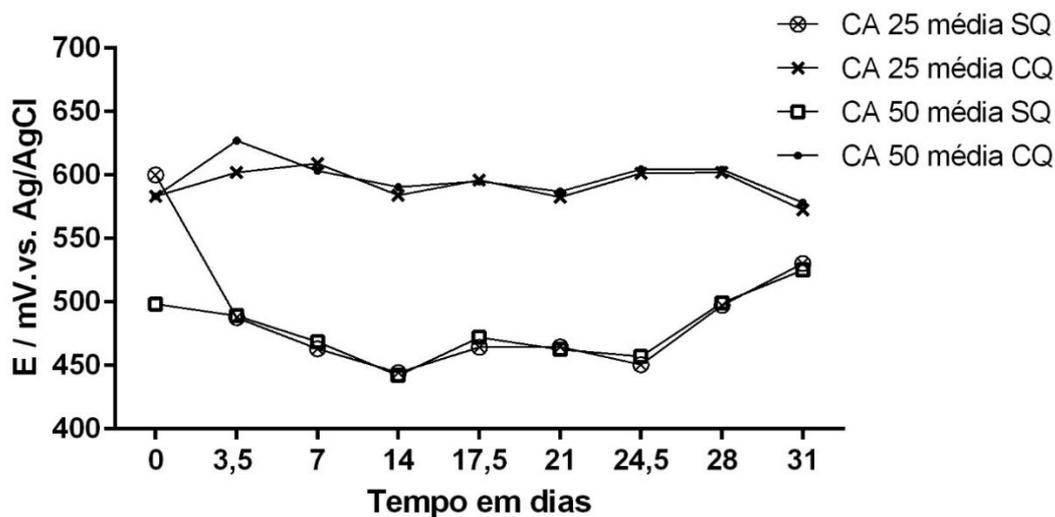
Figura 43. Medidas de DDP em corpos de prova de aço carbono CA50 imersos em meio BD (pH 5,5), sem quitosana, na presença de fungos filamentosos em 31 dias.



Fonte: a autora.

Ao analisar as comparações intraespecíficas para ambos os tipos de aço, em meio com e sem quitosana, para *M. rouxii* (Figura 44) observa-se uma diferença significativa entre os tratamentos da ordem de  $***p < 0,001$ , indicando assim que a presença de quitosana ajudou na proteção à corrosão.

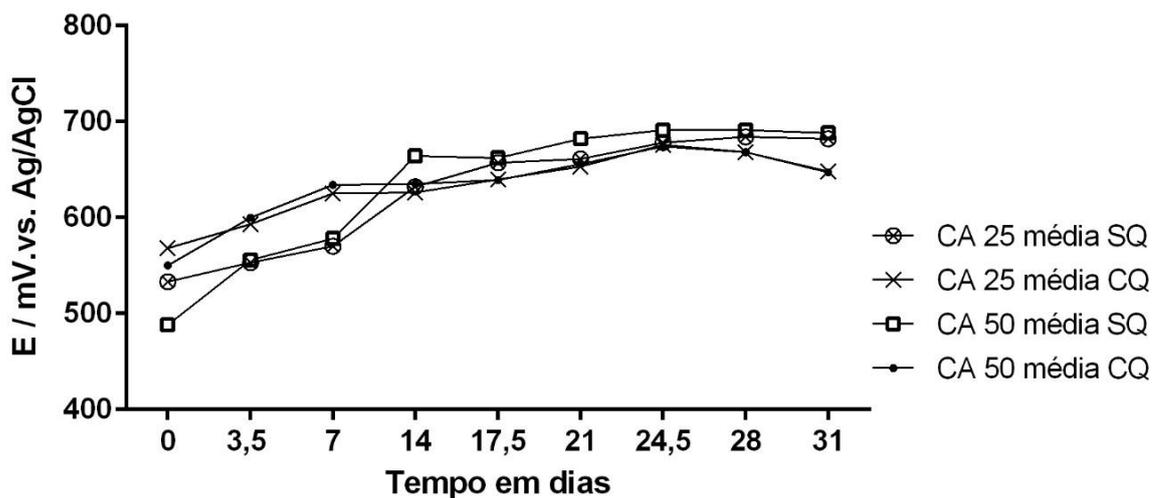
Figura 44. Medidas de DDP em corpos de aço carbono CA 25 e CA 50 imersos em meio BD (pH 5,5) com (CQ) e sem quitosana (SQ), na presença de *M. rouxii* durante 31 dias.



Fonte: a autora

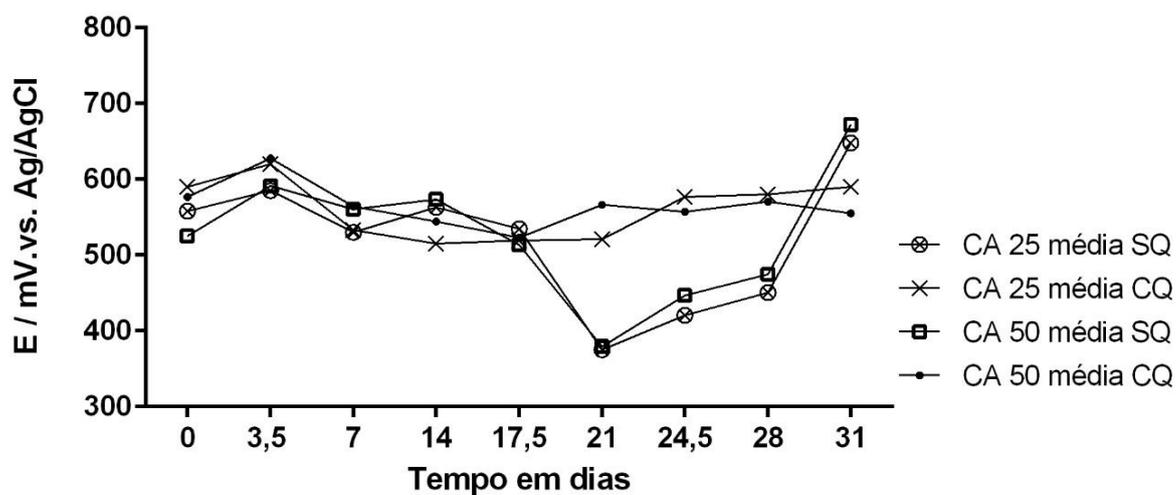
Para os tratamentos contendo *F. solani*, *A. niger* e *P. oxalicum* a presença de quitosana não influenciou na corrosão, o que pode ser comparado na Figura 45, 46 e 47, respectivamente.

Figura 45. Medidas de DDP em corpos de aço carbono CA 25 e CA 50 imersos em meio BD (pH 5,5) com (CQ) e sem quitosana (SQ), na presença de *F. solani* durante 31 dias.



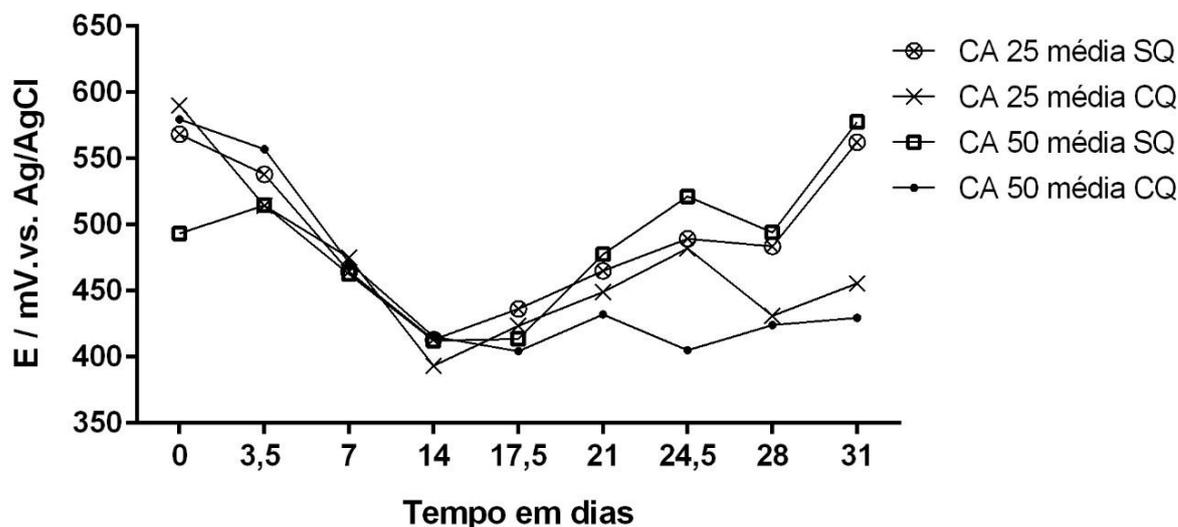
Fonte: a autora.

Figura 46. Medidas de DDP em corpos de aço carbono CA 25 e CA 50 imersos em meio BD (pH 5,5) com (CQ) e sem quitosana (SQ), na presença de *A. niger* durante 31 dias.



Fonte: a autora

Figura 47. Medidas de DDP em corpos de aço carbono CA 25 e CA 50 imersos em meio BD (pH 5,5) com (CQ) e sem quitosana (SQ), na presença de *P. oxalicum* durante 31 dias.



Fonte: a autora.

### 6.3.2 Medidas de DDP em corpos de prova de aço imersos em concretos

De acordo com Lisboa (2011), a dosagem máxima de quitosana no concreto para que esta não afete as propriedades desejadas de trabalhabilidade e resistência é de 0,05 g/L de quitosana em emulsão do volume total do traço a ser obtido e este foi o valor utilizado e padronizado para o preparo dos corpos de prova de concreto utilizados nas análises de medidas de DDP.

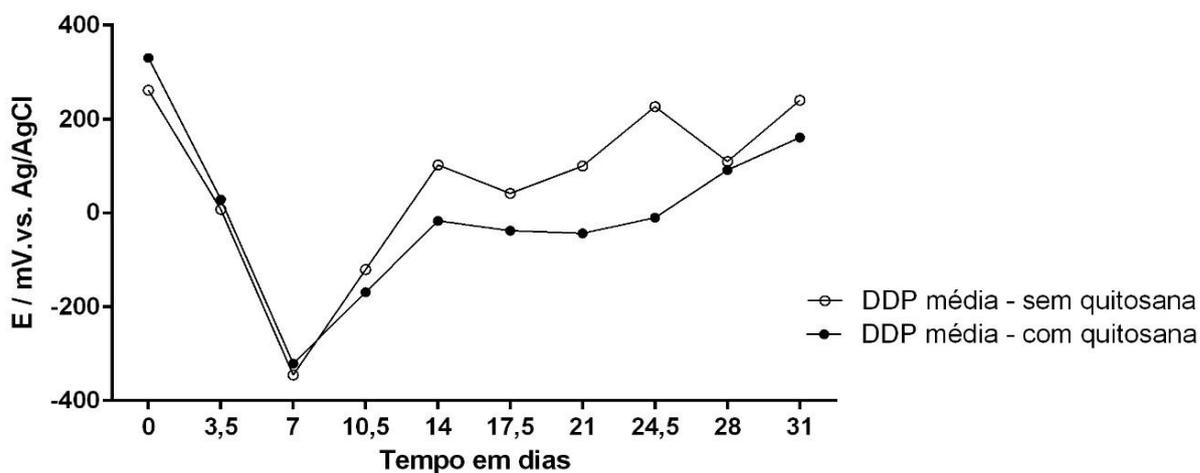
- Bactérias:

O controle foi mantido nas mesmas condições do experimento, consistindo em um recipiente com 2 corpos de prova de aço e concreto com quitosana e dois corpos de prova sem quitosana no mesmo recipiente. Observou-se por volta do 7º dia um de experimento um pico de queda no potencial, chegando a atingir valores negativos, daí ele tendeu a subir. Provavelmente esta queda de potencial está ligada a um período de estabilização do sistema.

No caso do tratamento contendo a bactéria *E. coli*, a diferença do potencial em corpos de prova de aço e concreto não apresentou diferença significativa entre os que apresentavam quitosana em sua composição dos que não continham o

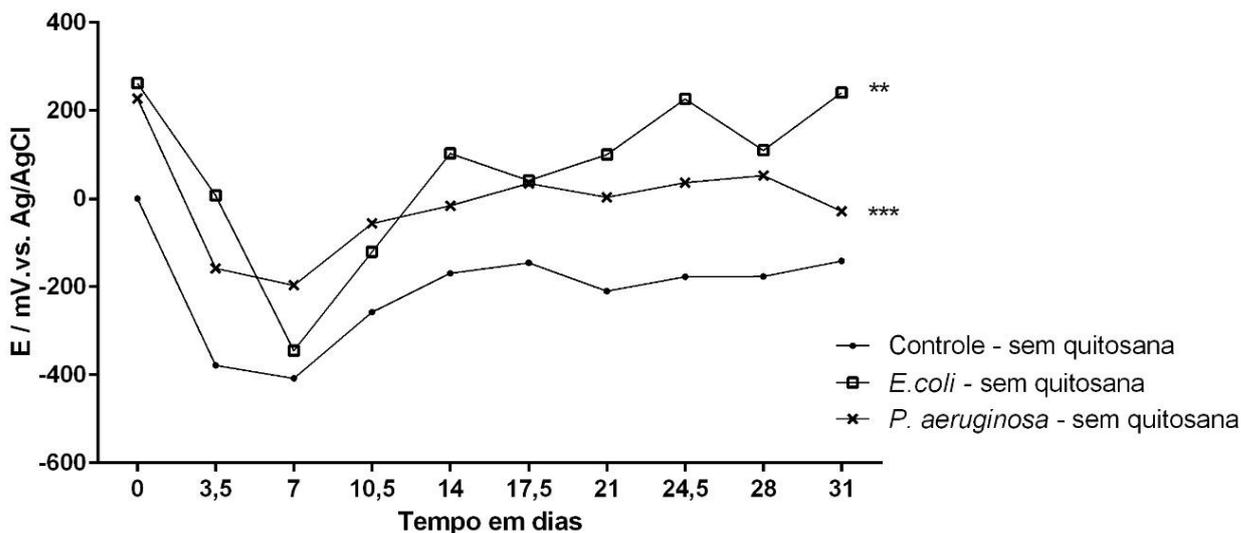
biopolímero (Figura 48). Porém, em comparação com a curva das medidas de DDP sem quitosana, observa-se um efeito protetivo do tratamento contendo *E. coli* e também de *P. aeruginosa* em relação ao controle da ordem de  $***p < 0,001$  quando em contato com os corpos de prova de aço e concreto (sem contato direto intencional com o aço (Figura 49).

Figura 48. Medidas de DDP em corpos de prova de aço carbono CA 25 e concreto com e sem quitosana agregada ao concreto, imersos em meio nutriente (pH 6,5) na presença de *E. coli* em 31 dias.



Fonte: a autora

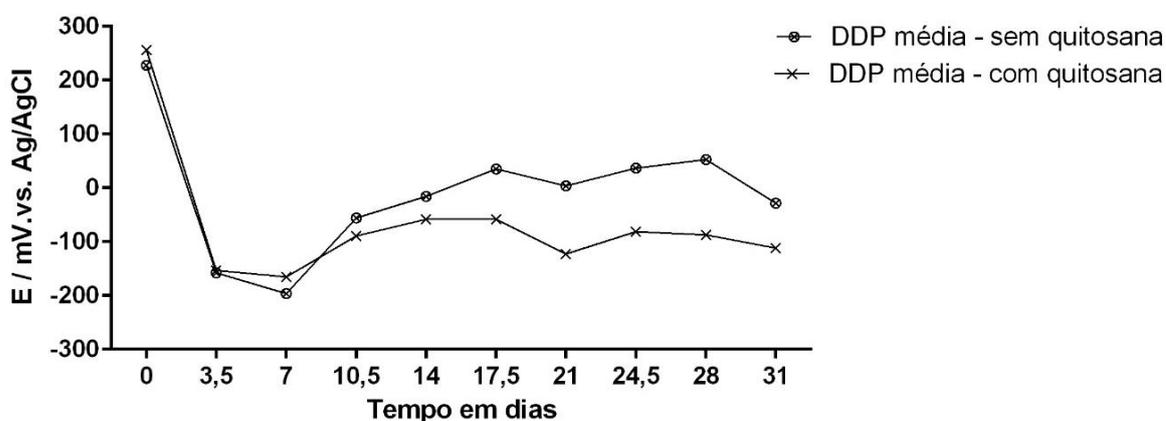
Figura 49. Medidas de DDP em corpos de prova de aço carbono e concreto sem quitosana agregada ao concreto, imersos em meio nutriente (pH 6,5), na presença de *E. coli* e *P. aeruginosa* em 30 dias.



Fonte: a autora.

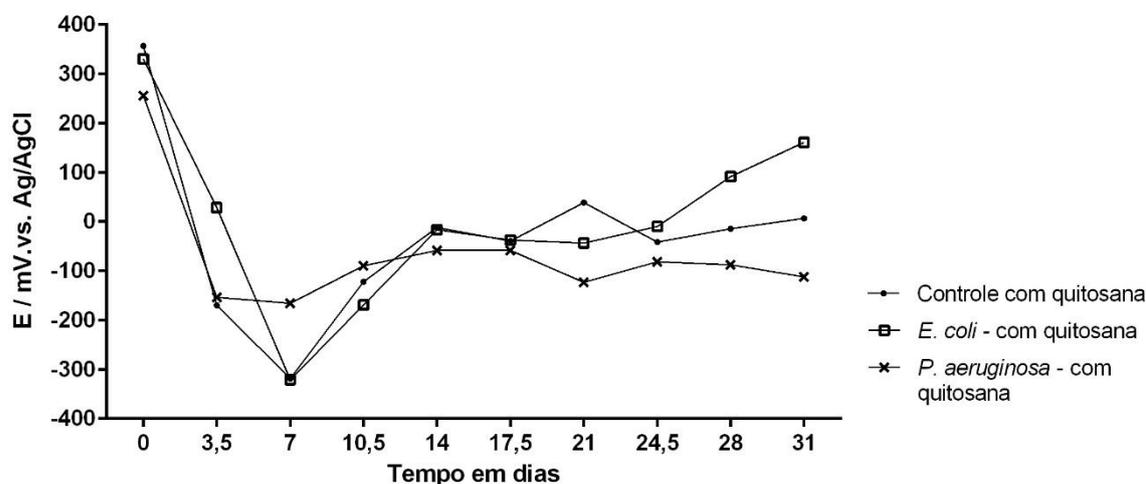
No caso de *P. aeruginosa* os valores da DDP dos corpos de prova com quitosana foram inferiores aos obtidos nos corpos de prova sem quitosana, de acordo com o teste t pareado (Figura 50). Porém ao analisar conjuntamente a comparação dos valores das medidas de DDP de *P. aeruginosa* em relação ao seu controle com quitosana, não é possível afirmar que este microrganismo agravou o processo de corrosão, uma vez que este valor não difere estatisticamente do controle (Figura 51), sendo compatível com os resultados de perda de massa e corrente de corrosão.

Figura 50. Medidas de DDP em corpos de prova de aço e concreto com e sem quitosana agregada ao concreto imersos em meio nutriente (pH 6,5), na presença de *P. aeruginosa* por 30 dias.



Fonte: a autora.

Figura 51. Medidas de DDP em corpos de prova de aço carbono e concreto com quitosana agregada ao concreto, imersos em meio nutriente (pH 6,5), na presença de *E. coli* e *P. aeruginosa* em 30 dias.



Fonte: a autora.

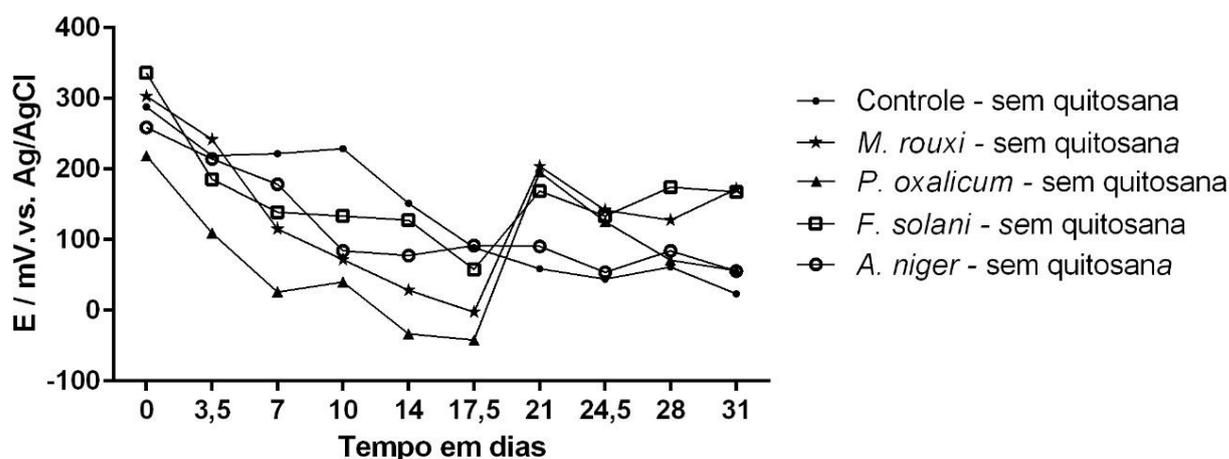
De acordo com ANOVA os valores para a DDP obtidos para *E. coli* também não diferem do controle quando são utilizados os corpos de prova de aço e concreto.

- Fungos:

Não foi encontrada diferença significativa entre os valores médios da DDP em corpos de prova de aço e concreto em meio BD entre cada espécie fúngica e os controles utilizados de acordo com a ANOVA (Figura 52).

Para os controles foi observada a proteção da quitosana entre os tratamentos contendo quitosana agregada ao concreto e na ausência desta, semelhantemente aos resultados encontrados para a corrente de corrosão em mesmo meio.

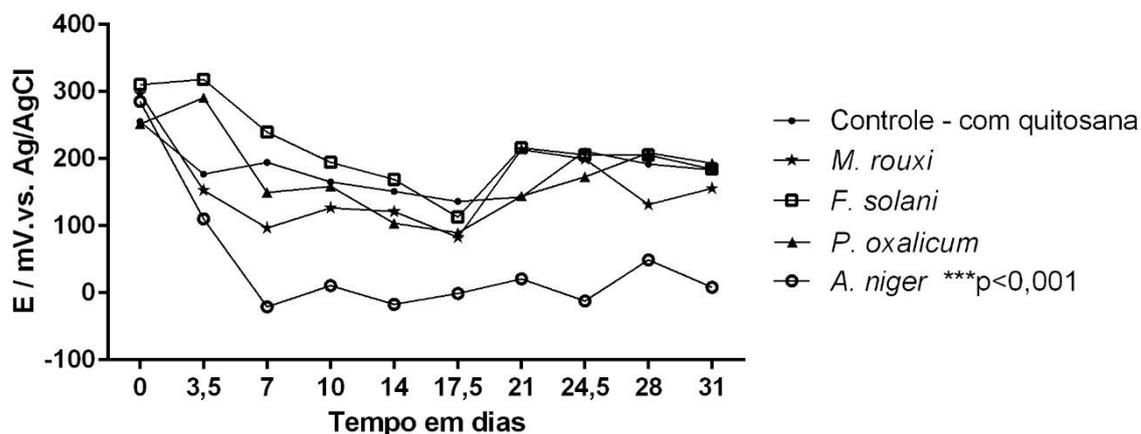
Figura 52. Medidas de DDP em corpos de prova de aço e concreto sem quitosana agregada ao concreto, imersos em meio BD (pH 5,5), na presença de fungos filamentosos durante 31 dias.



Fonte: a autora.

Para o tratamento com quitosana agregada ao concreto, apenas *A. niger* apresentou medidas de DDP inferiores ao controle, demonstrando seu comportamento agressivo ao concreto com quitosana, proporcionando a corrosão do aço em seu interior, (Figura 53).

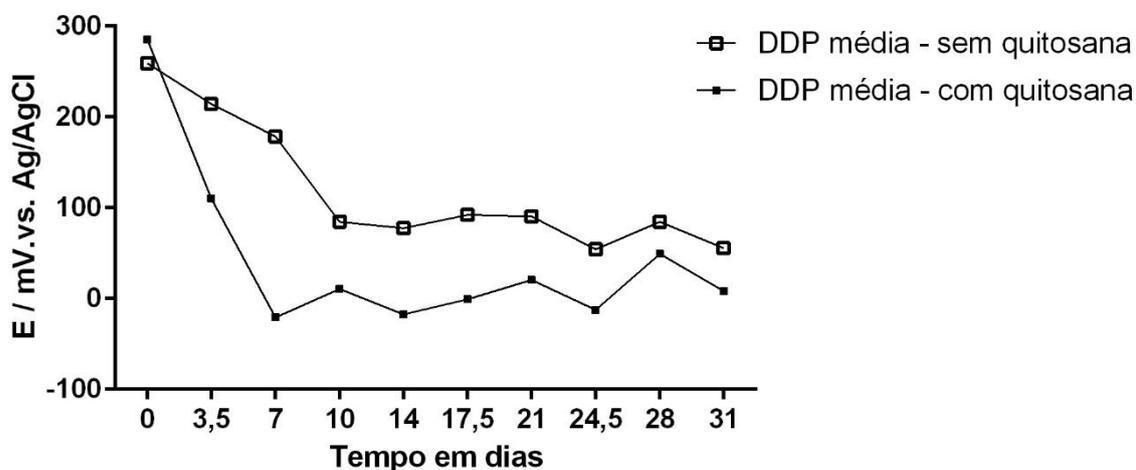
Figura 53. Medidas de DDP em corpos de prova de aço e concreto com quitosana agregada ao concreto, imersos em meio BD (pH 5,5), na presença de fungos filamentosos durante 31 dias.



Fonte: a autora.

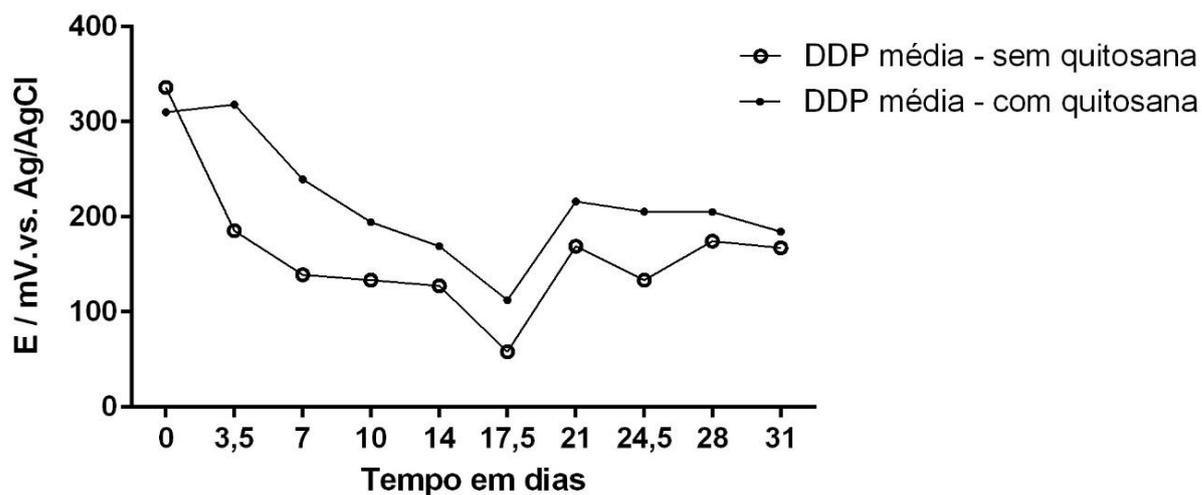
Ao serem comparados os corpos de prova sem e com quitosana na presença do mesmo microrganismo, *A. niger*, semelhante a *M. rouxii* e *F. solani*, não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos sem quitosana e com quitosana. (Figuras 54 a 57). De acordo com Kendra & Hadwiger (1984) os crescimentos micelianos de *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* e *F. solani* f. sp. *pisi* foram inibidos em concentrações mínimas 18 mg/mL de quitosana.

Figura 54. Medidas de DDP em corpos de prova de aço e concreto com e sem quitosana com quitosana agregada ao concreto, imersos em meio BD (pH 5,5), na presença de *A. niger*.



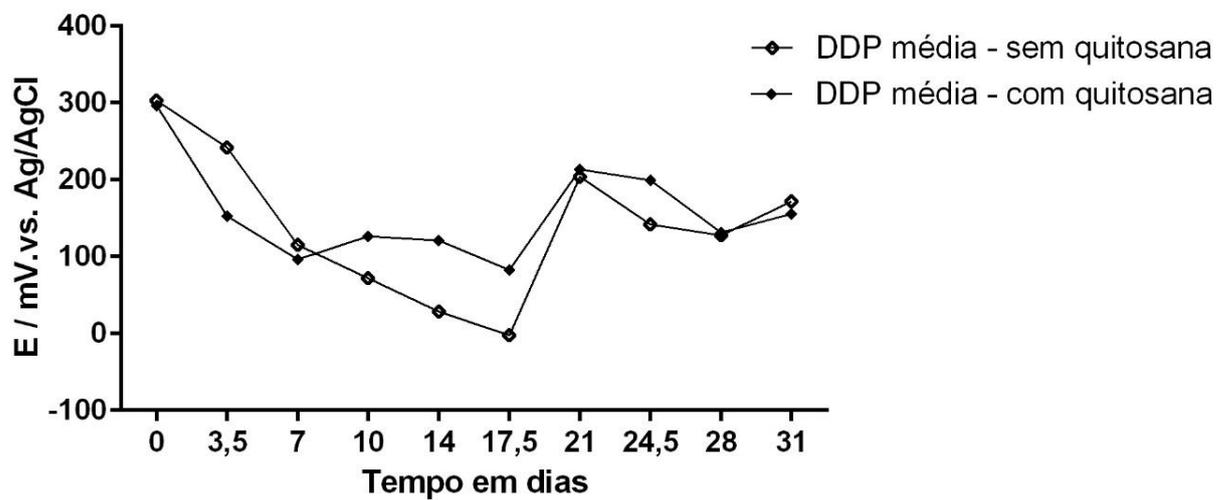
Fonte: a autora.

Figura 55. Medidas de DDP em corpos de prova de aço e concreto com e sem quitosana, na presença de *F. solani*.



Fonte: a autora.

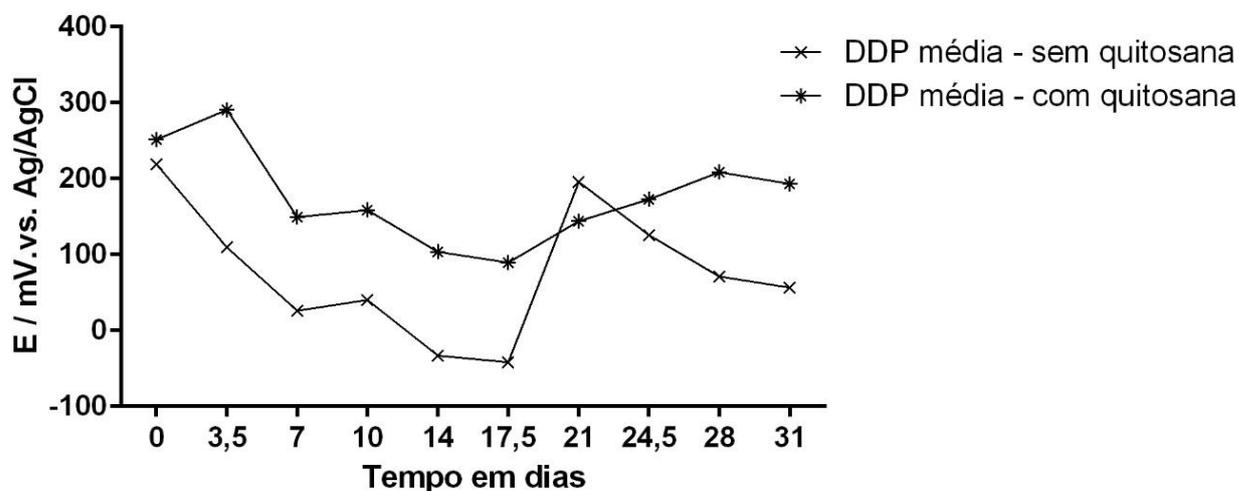
Figura 56. Medidas de DDP em corpos de prova de aço e concreto com e sem quitosana, na presença de *M. rouxii*.



Fonte: a autora

*P. oxalicum* foi o único fungo a apresentar diferença significativa ( $p < 0,01$ ) entre os tratamentos com e sem quitosana (Figura 57). Estes resultados mostram que a presença da quitosana agregada ao concreto ajudou na inibição da corrosão na presença deste microrganismo, uma vez que os valores da DDP se encontram mais elevados no tratamento com quitosana.

Figura 57. Medidas de DDP em corpos de prova de aço e concreto com e sem quitosana, na presença de *P. oxalicum*.



Fonte: a autora.

De forma geral, exceção feita ao *A. niger*, observa-se que o ao estudar blocos de concreto elaborados com a composição de resíduos de mármore e granito, os microrganismos estudados não provocaram mudanças no comportamento de potencial de circuito aberto que revelasse diferença estatística indicadora de aumento da corrosão, independente dos blocos terem ou não quitosana – ou seja – a quitosana imobilizada em concreto não influencia no ataque corrosivo microbiano.

## 6 CONCLUSÕES

---

Os testes realizados com a quitosana em meio de concreto simulado sem adição de microrganismos ratificam os resultados de Santos Filho (2009) e Lisboa (2011) a quitosana como um bom inibidor de corrosão por cloretos, principalmente para o aço CA 50.

Observou-se que à exceção de *P. aeruginosa* todos os demais microrganismos causam aumento da corrente de corrosão em solução simuladora de concreto quando na presença de quitosana, evidenciando a participação desta no metabolismo com consequente geração de espécies oxidantes.

De outro lado, na ausência de quitosana, observou-se a significativa redução das correntes de corrosão na presença de *F. solani* e *P. oxalicum*, o que revela a potencialidade de seu uso como inibidores de corrosão de aço carbono em solução.

Em corpos de prova de aço carbono imerso em concreto, a quitosana exibiu efeito protetivo frente aos microrganismos estudados, com exceção apenas para *A. niger*, porém não se pode dizer que a quitosana agravou o ataque por este fungo, uma vez que comparado ao seu controle com e sem quitosana constatou-se não haver diferença significativa entre os referidos tratamentos.

Pode-se assim indicar a quitosana como agente inibidor da corrosão do aço carbono a ser utilizada agregada ao traço do concreto para a inibição não só da corrosão por cloretos como da corrosão provocada/agravada pelos microrganismos ambientais testados.

## 7 REFERÊNCIAS

---

### 7.1. Referências Bibliográficas:

ABARCA, M. L.; ACCENSI, F.; CANO, J.; CABAÑES, F. J. Taxonomy and significance of black aspergilli. *Antonie van Leeuwenhoek*, Dordrecht, v. 86, n. 1, p. 33-49, 2004.

AFRÂNIO ARAGÃO CRAVEIRO (BR/CE). Afrânio Aragão Craveiro, Alexandre Cabral Craveiro, Francisca Noelia Pereira Mendes. **Gel fitoterápico de quitina e *Spondias mombin* com propriedades antiviróticas**. BR PI 9805479-1 A2. 1998 nov 19, 200 set 12.

ALLAN, C.R.; HADWIGER, L.A., 1979. The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell composition. *Exp. Mycol.* 3, 285-287.

ALVES, M. H.; TRUFEM, S. F. B; MILANEZ, A. I. Táxons de *Mucor Fresen.* (Zygomycota) em fezes de herbívoros, Recife, PE, Brasil. *Rev. bras. Bot.*, São Paulo, v. 25, n.2, Junho de 2002.

ANDERSEN, M. R. , NIELSEN, M. L. Y NIELSEN, J.(2008). Metabolic model integration of bibliome, genome, metabolome and reactome of *Aspergillus niger*. *Molecular Systems Biology* 4, 1-13 (material adicional disponível em [www.nature.com/msb](http://www.nature.com/msb)).

ANDRADE, J. M. S.; LIMA, M. L. P. Aspectos gerais e morfológicos de *Aspergillus flavus*". Estudos em doenças de plantas - IFGoiano Câmpus Urutaí. Disponível em [http://fitopatologia1.blogspot.com.br/2010/12/aspectos-gerais-e-morfologicosde\\_13.html](http://fitopatologia1.blogspot.com.br/2010/12/aspectos-gerais-e-morfologicosde_13.html). Acessado em 24 de março de 2015.

ANTONINO, N. de A. **Otimização do processo de obtenção de quitina e quitosana de exoesqueletos de camarões oriundo da indústria pesqueira paraibana**. 88p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, PB, 2007.

ARAÚJO, L. C. A. de. **Avaliação da corrosão induzida microbiologicamente em aço carbono AISI 1020 revestido com tinta pigmentada com óxido de nióbio**.

2011. 127f. Tese (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2011.

ARAÚJO, F. S. M. DE; LEMOS, J. L.S. Isolamento e identificação de fungos degradadores de petróleo. X Jornada de Iniciação Científica do CETEM, Rio de Janeiro, 2002. CT 2002-135-00

ARRUDA, E. A, Infecção hospitalar por *Pseudomonas aeruginosa*, Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 1998; 31:503-504.

AUBURN UNIVERSITY (US), Vanson Halosource, INC. (US). Shelby D. Worley, Yongjun Chen, Jia Wang Wang, Rong Wu, Yanjun Li. **Siloxanos substituídos com halamina heterocíclicos para uso em revestimentos e materiais biocidas**. US PI0311803-7. 2003 jun 12, 2005 abr 26.

AVIAM, O., BAR-NES, G., ZEIRI, Y., SIVAN, A., "Accelerated biodegradation of cement by sulfur-oxidizing bacteria as a bioassay for evaluating immobilization of low-level radioactive waste", Applied and Environmental Microbiology, 70 (10), 6031-6036 (2004).

AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; FOOK, M.V. L.; COSTA, A. C. F. M. - **Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais**. Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande – PB, 2007.

BARTNICKI-GARCIA, S.; NICKERSON, W. J. 1962a. Nutrition, growth, and morphogenesis of *Mucor rouxii*. J. Bacteriol. 84:841-858.

BARTNICKI-GARCIA, S.; NICKERSON, W. J. 1962b. Isolation, composition, and structure of cell walls of filamentous and yeast-like forms of *Mucor rouxii*. Biochim. Biophys. Acta 58: 102-119.

BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERNÁNDEZ-LOPEZ, M.; BOSQUEZ-MOLINA, E. Growth inhibition of selected fungi by chitosan and plants extracts. Journal of Phytopathology, v.22, p.178-186, 2004.

BENTO, F.M.; GAYLARD, C.C. biodeterioration of stored diesel oil: studies in Brazil. International biodeterioration and biodegradation, Barking, v. 47, n.2, p.107-112, 2001.

BENTO, R. A., STAMFORD, T. L. M., DE CAMPOS-TAKAKI, G. M., STAMFORD, T. C. M., & DE SOUZA, E. L. (2009). Isolation of chitosan from *Mucor rouxii* UCP064 as alternative natural compound to inhibit *Listeria monocytogenes*. Brazilian Journal of Microbiology, 40(3), 583–589. doi:10.1590/S1517-838220090003000022

BENTO, R. A., STAMFORD, T. L. M., STAMFORD, T. C. M., & DE SOUZA, E. L.; ANDRADE, S.A.C. de. Sensory evaluation and inhibition of *Listeria monocytogenes* in bovine pâté added of chitosan from *Mucor rouxii*. Food Science and Technology 44 (2011) p. 588-591

BIOFILM Ip, Llc (US). Armond Robert L. De, Michael B. Halsdorff, Daniel X. Wray. **New polysiloxane compounds used in e.g. antifoam, lubricant, hydraulic fluid, water repellent, release agent, skin cleansing, personal care or cosmetic compositions, deodorants, insect repellents and hair conditioners.** WO2012018403-A1; US2012064022-A1; CA2807336-A1; EP2601245-A1; CN103154095-A; JP2013539484-W; HK1185093-A0. 2011 ago 04, 2012 fev 09.

CARGILL, INCORPORATED (US). Weiyu Fan, John A. Bohlmann, James R. Trinkle, James D. Steinke, Ki-Oh Hwang, Joseph P. Henning. **Quitosana e seu método de preparação.** US PI0003114-3 A2. 2000 jul 24, 2001 dez 04.

CARMONA, F.; MAREGA, A. Retrospectiva da Patología no Brasil; Estudo Estatístico. Colloquia 88. Madrid, CEDEX, IET, Madrid, p.325–48. 1988.

CHATTERJEE, S.; ADHYA, M.; GUHA, A. K.; CHATTERJEE, B. P. Chitosan from *Mucor rouxii*: production and physico-chemical characterization. Process Biochemistry 40 (2005) 395–400.

COSTA, S. M. da; JÚNIOR, A. P. Fibra bactericida. Pesquisa FAPESP p.71. 2010

CRAVEIRO, A. A. **Quitosana, a fibra do futuro.** Ceará, PADETC, 124p. 1999.

DAL MOLIN, D. C. C. **Fissuras em Estruturas de Concreto Armado: Análise das Manifestações Típicas e Levantamento de Casos Ocorridos no Estado do Rio Grande do Sul.** Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 1988.

DALLAN, P. R. M. **Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração de pele.** Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química. Campinas, São Paulo, 2005.

EL GAOUTH, E.A., ARUL, J., GRENIER, J., ASSELIN, A. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. Phytopathology. 82, 398-402. 1992.

EMDE, K.M.E; SMITH, D.W.; FACEY, R. Initial investigation of microbially influenced corrosion (MIC) in a low temperature water distribution system. Water Research. Volume 26, Issue 2, February 1992, Pages 169–175

EMLab P&K, LLC-Testing Laboratory for Mold, Asbestos, Bacteria, USP 797, PCR, Radon, Allergens and more. Disponível em: <https://www.emlab.com/app/fungi/Fungi.po?event=fungi&type=primary&species=20&name=Mucor>. Última atualização: 12 de março de 2015.

FERNANDO BENJAMIN FISCHMANN T., (Santiago/CL). Crystal Lagoons Corporation LLC, Lewes, DE (US). **Providing high microbiological quality cooling water to industrial process, comprises storing inlet water in container, maintaining oxidation reduction potential by adding disinfectant, activating processes and applying oxidizing agent.** US2012091069-A1; WO2012134525-

A1; AU2011363515-A1; US8454838-B2; CA2830097-A1; IN201302951-P2; KR2013135327-A; ZA201306540-A; EP2691576-A1; MX2013011197-A1; EP2708516-A1; AU2013203513-A1; PH12013501692-A1. 2011 ago 01, 2012 abr 19.

FRANCO, B.D. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. 1º Ed. Editora Atheneu, 182 p. 2002.

FORD, T. & MITCHELL, R. The ecology of Microbial Corrosion. *Adv. Microb. Ecol*,11: 231-263, 1990.

GIANNANTONIO, D. J.; KURTH, J.C.; KURTIS, K. E.; SOBECKY, P. A. Effects of concrete properties and nutrients on fungal colonization and fouling. *International Biodeterioration & Biodegradation* 63 (2009) 252–259.

GÖRS, S., R. SCHUMANN, N. HAUBNER, e U. KARSTEN. “Fungal and algal biomass in biofilms on artificial surfaces quantified by ergosterol and chlorophyll a as biomarkers.” *International Biodeterioration & Biodegradation* 60 (2007): 50-59.

GUIMARÃES, S. da S. C. ***Fusarium solani* associado à soja no Brasil: morfologia, filogenia molecular e patogenicidade**. 2010.Tese (Doutorado). Lavras, MG, 2010.

HEMCON, INC (US) Simon J. McCarthy, Kenton W. Gregory, John W. Morgan. **Barreiras antimicrobianas, sistemas e métodos formados a partir de estruturas poliméricas hidrofílicas tais como a quitosana**. US PI0519404-0. 2005 dez 20, 2015 set 01.

HEMCON, INC (US) Simon J. McCarthy, Kenton W. Gregory, John W. Morgan. **Montagens, sistemas e métodos de curativo de tecido formado por estruturas de esponja de polímero hidrofílico como, por exemplo, quitosana**. US PI0417991-9. 2004 dez 22, 2007 abr 24

HYUNG LEE GUEN (KR). Chul Ho Ahn, Man Soo Jeon, Hyung Lee Guen, Nam Kyu Park. **Composition useful as non-chlorinated anti-freezing composition for concrete, comprises organic acid salt selected from alkali metal, and alkaline earth metal formate or alkaline earth metal acetate; polysaccharide; and water**. WO2008150039-A1; KR2010046006-A; KR1360262-B1. 2007 jun 08, 2008 dez 11.

Index Fungorum Search. Index Fungorum. 2008. Disponível em: <http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>. Acesso em: 01 fev. 2015.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6ª Ed. Editora Artmed, São Paulo. 711p. 2005.

JUZELIŪNAS E, RAMANAUSKAS R, LUGAUSKAS A, SAMULEVICIENE M, KONSTANTINAS L (2005) Microbially influenced corrosion acceleration and inhibition. EIS study of Zn and Al subjected for two years to influence of *Penicillium frequentans*, *Aspergillus niger* and *Bacillus mycooides*. *Electrochem Comm* 7:305–311.

JUZELIŪNAS E, RAMANAUSKAS R, LUGAUSKAS A, LEINARTAS K, SAMULEVICIENE M, SUDAVICIUS A, JUSKENAS R (2007) Microbially influenced corrosion of zinc and aluminium—Two-year subjection to influence of *Aspergillus niger*. *Corros Sci* 49:4098–4112.

KIEVIT, T. R. de. Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Environ Microbiol.* 2009 Feb;11(2):279-88. doi: 10.1111/j.1462-2920.2008.01792.x.

KIM, B. H.; LIM, S. S.; DAUD, W. R. W.; GADD, G.M.; CHANG, S. The biocathode of microbial electrochemical systems and microbially-influenced corrosion. *Bioresource Technology* 190 (2015) 395–401

KLICH, M. A. Identification of Common *Aspergillus* species. Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelauteurs, 2002. 116 p.

KONEMAN, E.W.; ALLEN S.D.; JANDA W.M.; SCHERCKENBERGER, P.C.; WINN, W.C. Jr. **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 5 ed : Medsi, 2008.

LARENA, I.; SABUQUILLO, P.; MELGAREJO, P. DE CAL, A.. Biocontrol of *Fusarium* and *Verticillium* Wilt of Tomato by *Penicillium oxalicum* under Greenhouse and Field Conditions. *Journal of Phytopathology* Volume 151, Issue 9, pag 507–512, Setembro, 2003.

LEAL, A.; VELOSO, L. PEDI, N.; LEMOS, S.; MACÊDO, D.; MAGALHÃES, O.; NEVES, R. Onicomicoses por espécies de *Fusarium*: revisão bibliográfica. Disponível em <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0550-2.pdf>. Consultado em 30 de março de 2015.

LEE S; CHOI H; SUH S; DOO I S; OH K Y; CHOI E J; SCHROEDER TAYLOR A T; LOW P S; LEE Y. Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of reactive oxygen species from guard cells of tomato and *Commelina communis*. *Plant physiology* (1999), 121(1), 147-52

LENS. Disponível em: <https://www.lens.org/lens/>. Consultado em 31 de julho de 2015.

LISBÔA, E. M. **Avaliação da adição de um biopolímero e de resíduo de mármore e granito nas propriedades do concreto**. Tese. (Doutorado em Química e Biotecnologia) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, 2011.

LIU, G.; ZHANG, L.; QIN, Y.; ZOU, G; LI, Z; YAN, X.; WEI, X.; CHEN, M.; CHEN, L.; ZHENG, K.; ZHANG, J.; MA, L.; LI, J.; LIU, R.; XU, H.; BAO, X.; FANG, X.; WANG, L.; ZHONG, Y.; LIU, W.; ZHENG, H.; WANG, S.; WANG, C.; XUN, L.; ZHAO, G.P.; WANG, T.; ZHOU, Z.; QU, Y.; G. Long-term strain improvements accumulate mutations in regulatory elements responsible for hyper-production of cellulolytic enzymes. *Sci Rep.* 2013;3:1569. doi: 10.1038/srep01569.

LUGINBUHL, S. de A class Project for PP728 Soil borne Pathogens, Fall 2010. Disponível em: [http://www.cals.ncsu.edu/course/pp728/Fusarium%20solani/Fusarium\\_solani.htm](http://www.cals.ncsu.edu/course/pp728/Fusarium%20solani/Fusarium_solani.htm). Acessado em 11/11/2012.

MERÇON, F.; GUIMARÃES, P. I. C.; MAINIER, F. B. Sistemas Experimentais para o Estudo da Corrosão em Metais. *Química Nova na Escola*, n.19, p. 11 – 14, 2004.

MONTEIRO, M. C. Q. Identificação de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* em solos preservados do cerrado. 75p. Tese (Doutorado em microbiologia agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2012.

MULLEN, M. D.; WOLF, D. C.; BEVERIDGE, T. J. BAILEY, G. W. (1992). Sorption of heavy metals by the soil fungi *Aspergillus niger* and *Mucor rouxi*. *Soil Biol. Biochem.* V. 24, pp. 129-35

MURRAY, P. R., E. J. BARON, TENOVER, M. A., YOLKEN, F. C. e PFALLER, R. H. **Manual of Clinical Microbiology**. 8<sup>o</sup>ed. Washington: ASM Press, 2003.

NÓBREGA, A. K. C. **Formulação de pastas cimentícias com adição de suspensões de quitosana para cimentação de poços de petróleo**. 2009. 135p. Tese (Doutorado em ciência e engenharia de materiais) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, 2009.

NUNES, M. R. S.; SILVA, R. C.; SILVA JR., J. G.; TONHOLO, J.; RIBEIRO, A. S. Preparation and morphological characterization of chitosan/clay nanocomposites. 11<sup>o</sup> International conference on advanced materials. Rio de Janeiro, 2009.

PALLERONI, N. J. **The Bactéria: a treatise on structure and function**. Academic press inc. orlando-Flórida. Vol X- the biology of Pseudomonas. Cap 1 taxonomy of the pseudomonads 1986 1<sup>a</sup> EDIÇÃO editado por J Sokatch

PALLU, A. P. S. **Potencial biotecnológico de fungos do gênero e interação com cana-de-açúcar**. 129 p. Tese (Doutorado em Ciências) -Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2010.

PAPINEAU, A., M. HOOVER, D. G., KNORR, D., FARKAS, D. F. Antimicrobial effect of water-soluble chitosans with high hydrostatic pressure. *Food Biotechnology*. 5, 45-57, 1991.

PELCZAR Jr, M. J.; CHAN, E. C. S. & KRIEG, N. R. **Microbiologia conceitos e aplicações**. Volume 1. 2<sup>o</sup> edição, 1997. São Paulo. Makron books.

PELCZAR Jr, M. J.; CHAN, E. C. S. & KRIEG, N. R. **Microbiologia conceitos e aplicações**. Volume 2. 2<sup>o</sup> edição, 1997. São Paulo. Makron books.

PANKHANIA, I. P. Hydrogen metabolism in Sulphate Reducing Bacteria and its role in anaerobic corrosion. **Biofouling**. 1 : 27-47, 1988.

PETER, M.G. Chitin and Chitosan from Animal Sources. In: *Biopolymers, Polysaccharides II: Polysaccharides from Eukaryotes*, (A. Steinbüchel series ed.; E.

J. Vandamme, S. De Baets and A. Steinbüchel volume eds), 2002, Volume 6, pp 481-574. Weinheim: Wiley VCH

PETROBRAS - Petróleo Brasileiro S.A.(BR/RJ) / UFRN - Universidade Federal do Rio Grande do Norte (BR/RN) Marcus Antônio de Freitas Melo, Dulce Maria de Araújo Melo, Romero Gomes da Silva Araújo, Antônio Eduardo Martinelli. 2006 fev 23, 2007 out 30.

PETRUCCIOLI, M. & FEDERICI, R.G. 1992. A note on the production of extracellular hydrolitic enzymes by yeast-like fungi and related microorganisms. *Annals Microbiology and Enzimology* 42:81-86.

PIMENTA, G. de S. Corrosão, uma abordagem geral. Disponível em [http://www.iope.com.br/3i\\_corrosao.htm](http://www.iope.com.br/3i_corrosao.htm). Acessado em 23/05/2014.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. *Fungi and food spoilage*. 3rd ed. Dordrecht: Springer, 2009.

POLYMAR - Indústria e Comércio Importação e Exportação Ltda (Fortaleza, CE). Alexandre Cabral Craveiro, Afrânio Aragão Craveiro. **Membrana de quitina e quitosana para utilização em regeneração de tecidos e cicatrizações**. BR PI9805480-5. 2005 nov 25, 2007 ago 07.

POLYMAR - Indústria e Comércio Importação e Exportação Ltda (Fortaleza, CE). Alexandre Cabral Craveiro, Afrânio Aragão Craveiro, Francisca Noelia Pereira Mendes. **O uso de quitosana e Spondias mombin na preparação de fitoterápicos**. BR PI 0506647-6 A2. 2005 nov 25, 2007 ago 07.

PRAXEDES, A.P.P.; DA SILVA, A.J.C.; DA SILVA, R.C.; LIMA, R.P.A.; TONHOLO, J.; RIBEIRO, A.S.; DE OLIVEIRA, I.N. Effects of UV irradiation on the wettability of chitosan films containing dansyl derivatives. *Journal of Colloid and Interface Science* 376 (2012) 255–261.

QUINTELLA, C. M.; MEIRA, M.; GUIMARÃES, A. K.; TANAJURA, A. S.; DA SILVA, H. R. G. Prospecção Tecnológica como uma Ferramenta Aplicada em Ciência e Tecnologia para se Chegar à Inovação. *Rev. Virtual Quim.*, 2011, 3 (5), 406-415

RAAFAT, D.; VON BARGEN, K.; HAAS, A.; SAHL, H.G. Insights into the Mode of Action of Chitosan as an Antibacterial Compound *Appl. Environ. Microbiol.* 2008 vol. 74 sem. 12 3764-3.773.

RAMANAUSKA, R., JUZELIŪNAS, E., NARKEVIËIUS, A., BUËINSKIENË, D., LUGAUSKAS, A., PEËIULYTË, D., LEVINSKAITË, L., ULEVIËIUS, V., JASINEVIËIENË, D. (2005) Investigation of microbiologically influenced corrosion. *Chemija* 1:25–34

REACTIVE SURFACE, LTD. Austin, Texas (US). WALES, Melinda, McDANIEL, C., Steven. **Anti-fouling paints and coatings**. WO/2011/034931. 2010 set 15, 2011 mar 24.

REYES-OCAMPO, I.; GONZÁLEZ-BRAMBILA, M.; LÓPEZ-ISUNZA, F. Un análisis del metabolismo de *Aspergillus niger* creciendo sobre un sustrato sólido. Revista Mexicana de Ingeniería Química, vol. 12, núm. 1, 2013, pp. 41-56 Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa Distrito Federal, México

RINCÓN, O. T., DURACON COLLABORATION. Durability of concrete structures: DURACON, an iberoamerican project. Preliminary results. Building and Environment v.41, p.952–962. 2006.

ROBERTS, G. A. F., 1992. **Chitin Chemistry**. Houndmills MacMillan Press Ltd., pp. 106-110.

RODRIGUES, A. C. S. **Resistência aos antimicrobianos e tipagem molecular de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de dois hospitais de Campo Grande – MS**. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Campo Grande, MS, 2010.

ROSSI, C. G. F. T. **Inibição à corrosão do aço AISI 1020, em meios ácido e salino, por tensoativos e substâncias nitrogenadas microemulsionados**. 162 p. Tese. (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, RN, 2007.

SABUQUILLO, P.; CAL, A. D.; MELGAREJO, P. "Biocontrol of tomato wilt by *Penicillium oxalicum* formulations in different crop conditions". Biological Control 37 (3): 256. (2006). doi:10.1016/j.biocontrol.2006.02.009

SAMSON, M. Producing Privatization: Re-articulating Race, Gender, Class and Space. Antipode. Volume 42, Issue 2, pages 404–432, March 2010

SANCHEZ-SILVA, M.; ROSOWSKY, D. V. Biodeterioration of construction materials: state of the art and future challenges. Journal of Materials in Civil Engineering. 2008.

SANTIN, E.; MAIORKA, A.; ZANELLA, I.; MAGON, L. Micotoxinas do *Fusarium* spp na avicultura comercial. Cienc. Rural. 2001, vol.31, n.1, pp. 185-190.

SANTOS FILHO, M. M.; MIRAPALHETA, A.; TONHOLO, J. Investigação do Biopolímero como inibidor de corrosão para o aço em solução aquosa de hidróxido de cálcio Saturado. 32<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2009.

SANTOS FILHO, M. M. dos. **Investigação da potencialidade de um biopolímero como inibidor de corrosão do aço carbono em meio alcalino**. Monografia de Qualificação, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, 2010.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H.; MILANEZ, A. I. Mucorales (Zygomycotina) da Mata Atlântica da Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, Santo André, SP. Acta Bot. Bras. , Feira de Santana, v. 11, n. 1, Julho de 1997.

SETTE, L.D ; PASSARINI, M.R.Z ; RODRIGUES, A ; LEAL, R.R ; SIMIONI, K.C.M ; NOBRE, F.S ; DE BRITO, B.R ; DA ROCHA, A.J ; PAGNOCCA, F.C. Fungal

diversity associated with Brazilian energy transmission towers. *Fungal Diversity*, 2010 Oct, Vol.44(1), pp.53-63.

SHIRAKAWA, M. A. **Estudo da Biodeterioração do Concreto por *Thiobacillus***. 1994. 121p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. São Paulo, SP, 1994.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C.A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2<sup>o</sup>ed, Livraria Varela. São Paulo, 2001.

SILVA, D. M. da. **Identificação de espécies de *Aspergillus* seção *nigri* por taxonomia polifásica e descrição de duas novas espécies do gênero**. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG, 2009

SILVA, J.L.E. da. **Utilização de Modelos microbianos para estudo de metabolismo *in vitro* do ácido copálico**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêutica) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, 2013.

SILVA, R. C.; SARMENTO, M. V.; NOGUEIRA, F. A. R.; TONHOLO, J.; MORTIMER, R. J.; FAEZC, R.; RIBEIRO, A. S. Enhancing the electrochromic response of polyaniline films by the preparation of hybrid materials based on polyaniline, chitosan and organically modified clay. *RSC Adv.*, 2014, 4, 14948–14955.

SMITH, J. L., e P. M. FRATÂMICO. “Factores involved in the emergence and persistence of foodborne diseases.” *Journal of Food Protection* 58 (1995): 696-708.

STIFTUNG NANO INNOVATIONS -for a better living (DE). Ralf Jürgens, Sascha Schwindt. EP1825752-A2; DE102006008535-A1; EP1825752-A3; EP1825752-B1; DE502007002000-G 2006 **Antibacterial coating composition, useful e.g. as a coating for hard surfaces, comprises a silicon dioxide production agent and antibacterial active substances e.g. cationic, anionic or nonionic deacetylated or chitosan or its derivatives**. 2007 fev 06, 2009 nov 18.

SUDHARSHAN, N. R., HOOVER, D. G., KNORR, D. Antibacterial action of chitosan. *Food Biotechnology*. 6, 257-272, 1992.

SURMAN, S., G. MORTON, e B. KEEVIL. “Biofilms: an overview.” *PHLS Microbiology Digest* 13 (1996): 33-38.

SYNOWIECKI J.; ALI, A. N.; AL-KHATEEB, Q. Mycelia of *Mucor rouxii* as a source of chitin and chitosan *Food Chemistry*, Vol. 60, No. 4, pp. 60-610, 1997

TIWARI, K.L.; JADHAV, S.K; ASHISH, K. Morphological and Molecular Study of Different Penicillium Species Middle-East Journal of Scientific Research 7 (2): 203-210, 2011 ISSN 1990-9233© IDOSI Publications, 2011

UCHÔA, S. B. B. **Inibição de corrosão em concreto armado: eficiência e comportamento do sistema tiouréia/molibdato de sódio**. 219 p. Tese

(Doutorado em Química e Biotecnologia) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, 2007.

UFAL. Universidade Federal de Alagoas (Maceió-AL). Manoel Martins dos Santos Filho, Josealdo Tonholo, Sílvia Beatriz Beger Uchôa, José Ginaldo da Silva Júnior, Adriana Santos Ribeiro, Edvaldo Monteiro Lisbôa. **Composição a base de quitosana como inibidor de corrosão em aço**. BR 201003149-A2. 2010 jun 10, 2012 fev 12.

UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais (BR/MG). André Augusto Gomes Franco, Juçara Ribeiro Franca, Vagner Rodrigues Santos, Mariana Passos De Luca, Allyson Nogueira Moreira. **Verniz polimérico de própolis**. BR PI1005619-0 A2. 2010 dez 13, 2013 abr 02.

VIDELA, H. A. **Corrosão Microbiológica**. Editora Edgard Blücher Ltda., São Paulo, 65p.1993.

VIDELA, H. A. **Biocorrosão, biofouling e biodeterioração de materiais**. Editora Edgard Blücher Ltda., São Paulo, 147p.2003.

VINCKE, E.; BOON, N.; VERSTRAETE, W., "Analysis of the microbial communities on corroded concrete sewer pipes—a case study", Applied Microbiology and Biotechnology, 57 (5/6), 776-785 (2001).

VIRIATO, A.. **Diversidade e aspectos ecológicos de Mucorales (Zygomycetes) de solo e de fezes de herbívoros, no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil**. Dissertação (Mestrado em) Universidade de Guarulhos, Guarulhos, SP, 1996.

VISAGIE, C.M.; HOUBRAKEN, J.; FRISVAD, J.C.; HONG, S.B.; KLAASSEN, C.H.W.; PERRONE, G.; SEIFERT, K.A.; VARGA, J.; YAGUCHI, T.; SAMSON, R.A. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. STUDIES IN MYCOLOGY 78: 343–371 Published online 22 September 2014.

WILO SE (DE). Ute Bergmann, Dr.-Ing. Heisterkamp Beate, Silvia Mühle, Dr. Schwarz Martin, Hartmut Worch, Prof. Dr.-Ing. Wurm Frank-Hendrik. **Coating composition, useful e.g. as internal coating for containers, comprises titanium dioxide-producing agent and a component comprising collagen, chitosan, phenol and/or substituted quaternary ammonium salts of alkylated phosphoric acid**. DE102010032619-A1; WO2012013335-A2; WO2012013335-A3; WO2012013335-A4; EP2598588-A2; US2013280523-A1. 2010 jul 29, 2012 fev 02.

WOLYNEC, S. **Técnicas Eletroquímicas em Corrosão**. Editora da USP, São Paulo, 2003.

YAN, G. E VIRARAGHAVAN, T. (2003). Heavy-metal removal from aqueous solution by fungus *Mucor rouxii*. Water research v. 37 (18), pp. 4486-4496

ZACCARDELLI, M.; VITALE, S.; LUONGO, L.; MERIGHI, M.; CORAZZA, L. Morphological and Molecular Characterization of *Fusarium solani* Isolates. Journal of Phytopathology Volume 156, Issue 9, pages 534–541, September 2008.

## 8 APÊNDICES



**APÊNDICE 1. Resultados dos testes de crescimento dos microrganismos em meio mínimo:**

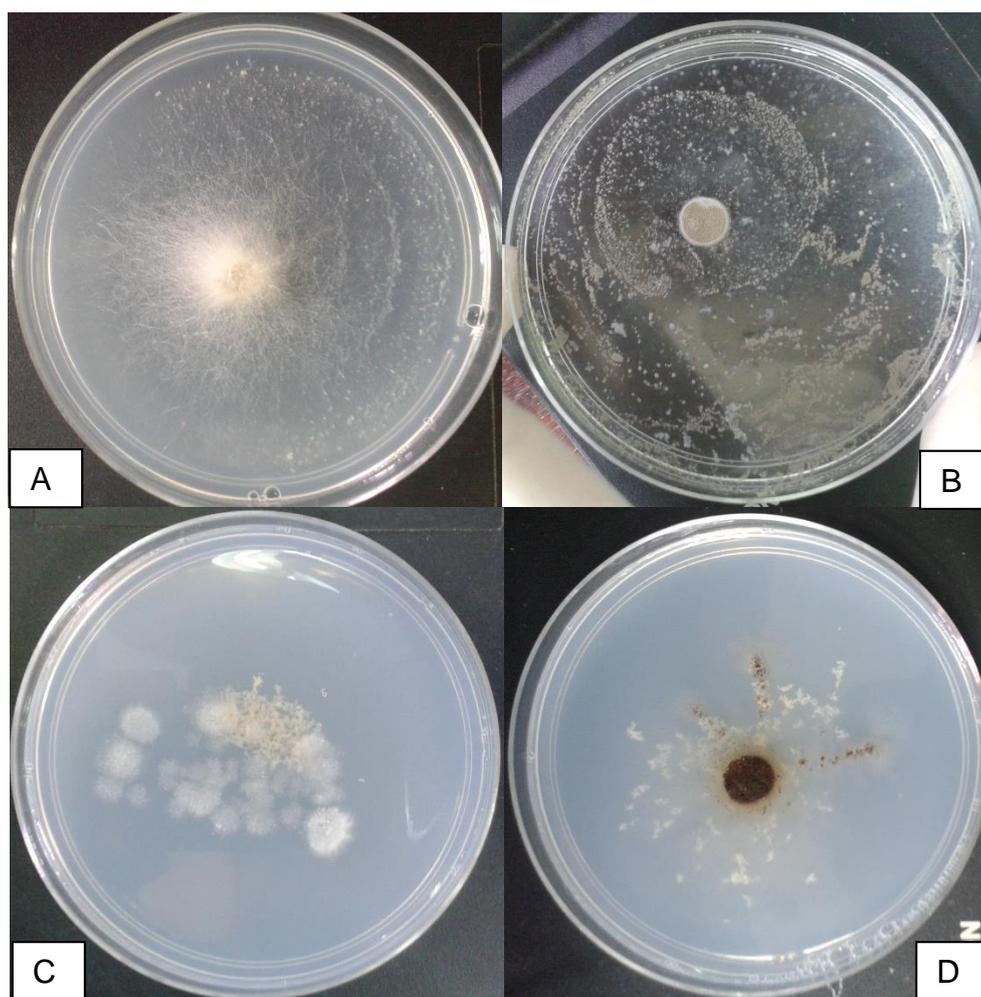
**Tabela 9. Testes de crescimento dos microrganismos em meio mínimo preparados de acordo com a Tabela 3.**

Microrganismos:	Meio 1 (pH 6)	Meio 2 (pH 4)	Meio 3 (pH 5)	Meio 4 (pH 6)
<i>M. rouxii</i>	+	+	+	-
<i>F. solani</i>	+	+	+	-
<i>P. oxalicum</i>	+	+	+	-
<i>A. niger</i>	+	+	+	-

Legenda: (+) Crescimento; (-) Não apresentou crescimento

Fonte: a autora

Figura 58. Crescimento dos fungos filamentosos em meios teste dispostos na Tabela 3. (A) *M. rouxii*, (B) *F. solani*, (C) *P. oxalicum* e (D) *A. niger*.



Fonte: a autora

**APÊNDICE 2. Quadro síntese dos resultados obtidos:**

Quadro1. Quadro síntese dos resultados obtidos nos experimentos realizados.

		Experimentos													
		Corrente de corrosão								DDP					
		Em solução de Ca(OH) <sub>2</sub>				Em meio de cultura				Com corpos de prova de aço				Com corpos de prova de aço e concreto	
		Aço CA 25		Aço CA 50		Aço CA 25		Aço CA 50		Aço CA 25		Aço CA 50		Aço CA 25	
5% quit		10% quit.		5% quit		10% quit.		SQ		CQ		SQ		CQ	
<b>Microrganismos:</b>															
<b>SEM MICRORGANISMOS</b>		↔	↔	↓	↓	↔	↓	↔	↓	↔	↔	↔	↔	↔	↔
<b>Bactérias</b>	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	↓	↑	↓	↑	-	-	-	-	↓	-
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	↓	↔	↓	↔	-	-	-	-	↓	-
<b>Fungos</b>	<i>F. solani</i>	-	-	-	-	↓	↔	↓	↑	↔	↔	↔	↔	↔	↔
	<i>A. niger</i>	-	-	-	-	↔	↑	↔	↔	↑	↔	↔	↔	↔	↑
	<i>M. rouxii</i>	-	-	-	-	↔	↑	↔	↑	↑	↓	↑	↓	↔	↔
	<i>P. oxalicum</i>	-	-	-	-	↓	↑	↓	↔	↑	↔	↑	↔	↔	↔

Legenda:

(-) Não foi testado

(↓) Diminuiu a corrosão em relação ao controle

(↔) Igual (neutro) em relação ao controle

(↑) Agravou a corrosão em relação ao controle