

## **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOCORROSIVO DO FUNGO *Penicillium candidum* POR MEIO DE TÉCNICAS DE MICROSCOPIAS**

**Sabrina de Moura Rovetta<sup>1,2</sup>, Sônia Khouri<sup>1</sup>, Antônio Jorge Abdalla<sup>2</sup>, Walter Miyakawa<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Universidade do Vale do Paraíba - Nufabi – Núcleo de Estudos Farmacêuticos e Biomédicos, Av. Shishima Hifumi, 2911, São José dos Campos, SP, [sabrinam\\_sjc@yahoo.com.br](mailto:sabrinam_sjc@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Instituto de Estudos Avançados, Divisão de Fotônica, Trevo Coronel Aviador José Alberto Albano do Amarante, 1, [wmi@ieav.cta.br](mailto:wmi@ieav.cta.br)

**Resumo-** Micro-organismos, durante o seu ciclo de vida, liberam metabólitos que podem ser benéficos ou maléficos. Quando esses metabólitos deterioram os materiais por meio de corrosão, este processo é maléfico e é chamado de biocorrosão. No entanto, os metabólitos também podem ser utilizados benéficamente para a produção de medicamentos (penicilina) ou de alimentos (principalmente pela indústria de laticínios, onde metabólitos de fungos são utilizados para a fermentação e cura de queijos). Pensando nisto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar se o fungo *Penicillium candidum*, geralmente utilizado na produção de queijos azuis, tem potencial biocorrosivo. Para isso utilizou-se um aço AISI 300M, que foi avaliado por técnicas microscópicas antes e após o contato com o fungo. Após o contato, verificou-se que este fungo tem um potencial biocorrosivo.

**Palavras-chave:** Biocorrosão, AFM, Aço, *Penicillium candidum*.

**Área do Conhecimento:** bioengenharia

### **Introdução**

Atualmente, sabe-se que micro-organismos (bactérias e fungos) são capazes de provocar a corrosão dos mais diversos materiais como alumínio e suas ligas, cobre, aço, ferro, zinco, chumbo e até mesmo materiais não metálicos como o concreto (VIDELA, 2003; BELOV et al., 2007; SMIRNOV et al, 2008). Devido a essa biocorrosão, ocorrem prejuízos de ordem econômica e estrutural nos mais diversos setores da sociedade (SANTOS, 2008).

Apesar do avanço na produção dos aços, o problema da biocorrosão ainda persiste, e um dos setores que sofre frequentemente com essas ações é a indústria petrolífera. A biocorrosão, nesse setor, ocorre basicamente por causa de contaminações, que levam à formação de biofilmes de micro-organismos que se alimentam do próprio petróleo e liberam metabólitos com alto potencial corrosivo (ácidos orgânicos e inorgânicos) (GALVÃO, 2008; ANUNZIATO et al, 2010; KASNOWSKI et al, 2010). Inúmeras bactérias e fungos são descritos na literatura como capazes de gerar corrosão. Dentre os fungos, os do gênero *Penicillium* (VIDELA, 2003) são citados, e isso é interessante, uma vez que as espécies *P. camemberti*, *P. candidum* e *P. roqueforti* são amplamente utilizadas na indústria de alimentos, para a produção dos chamados “queijos azuis”. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial biocorrosivo do fungo

*Penicillium candidum* sobre a superfície do aço AISI 300M, o que deve contribuir para a pesquisa e desenvolvimento de processos anticorrosivos para a indústria alimentícia.

### **Metodologia**

Preparou-se uma suspensão adicionando uma massa de 103 mg de fungo liofilizado *Penicillium candidum* (PC-TT-033, marca CHR HASEN) em 5 mL de água destilada estéril. A partir da suspensão reativada, fez-se a semeadura da cultura gigante em ágar *Sabouraud Dextrose*. Após duas semanas de incubação à temperatura constante de 25°C, observou-se macroscopicamente a cultura pura. Então, a partir desta, fez-se o microcultivo em ágar *Sabouraud Dextrose*. Após duas semanas, observaram-se microestruturas características do gênero *Penicillium*. Uma vez que as análises macroscópicas e microscópicas apresentaram características de uma cultura pura, preparou-se uma suspensão de esporos (suspensão mãe), que foi quantificada em câmara de Neubauer, obtendo-se o valor  $1,50 \times 10^5$  esporos/mL.

Cinco amostras de aço AISI 300M foram então cortadas em bloco, lixadas, polidas e atacadas com solução de Nital a 5% por 10 segundos. Estas amostras foram colocadas, cada uma em um tubo de ensaio, contendo caldo *Sabouraud* e em três dos cinco tubos foram transferidos 100 µL da suspensão mãe. As amostras ficaram incubadas

por um período de 14 dias à temperatura constante 25°C.

As amostras foram avaliadas antes e após a biocorrosão, utilizando o microscópio de força atômica - MFA (*Shimadzu Corp. Inc., modelo SPM 9500J3*), do Departamento de Física do Instituto Tecnológico de Aeronáutica (ITA), em modo de contato, e o microscópio eletrônica de varredura - MEV (*Carl Zeiss Inc., modelo 435VPi*) do Lab. de Microscopia Eletrônica de Varredura da Divisão de Materiais (AMR) do Instituto de Atividades Espaciais (IAE). A microanálise por energia dispersiva – EDS também foi feita antes e após a biocorrosão.

### Resultados

Nas micrografias obtidas por MFA do aço antes da biocorrosão podem ser visualizadas a microestrutura bainítica (Figura 1), característica do aço 300M, com suas respectivas fases:  $\alpha$ -ferrita (setas brancas), cementita (círculo maior, tracejado branco), e ferrita não transformada residual (círculo maior, tracejado branco).

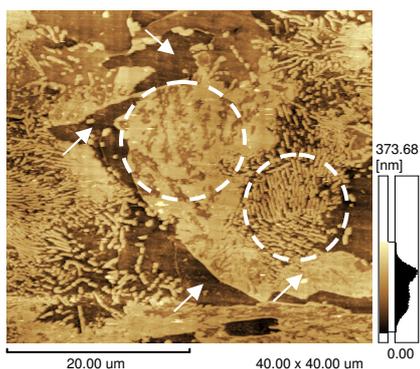


Figura 1- Micrografia bidimensional de MFA do aço AISI 300M antes da exposição ao fungo *Penicillium candidum* com a microestrutura bainítica e suas fases.

Nas micrografias obtidas por MEV, foram vistas as mesmas microestruturas observadas por MFA, e, com o auxílio do EDS, verificou-se sobre a superfície do aço a presença de alguns dos elementos químicos constituintes do aço como o alumínio, o carbono, o cromo, o ferro, o manganês, o níquel e o silício.

Após os 14 dias do processo de indução de biocorrosão, ocorreram algumas mudanças morfológicas nas fases da bainita (Figura 2): a fase da cementita teve perda no delineamento dos seus grãos (círculos brancos tracejados); a fase  $\alpha$ -ferrítica também teve sua estrutura inicial modificada, pelo aparecimento de *pites* (cavidades) de corrosão (setas brancas).

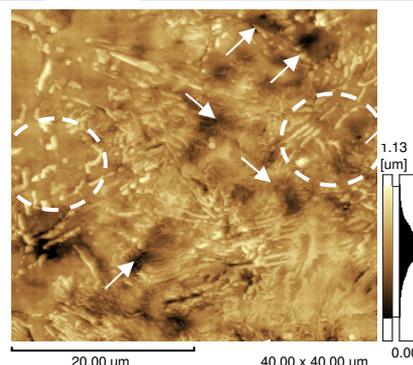


Figura 2- Micrografia bidimensional de MFA do aço AISI 300M após a exposição ao fungo *Penicillium candidum* com alterações da microestrutura bainítica.

Também foi constatado o aparecimento de novas estruturas (Figura 3), visualizadas por ambas as técnicas de microscopia (círculos tracejados brancos). A microanálise por EDS sobre a superfície destas estruturas revelou a presença de 40% de oxigênio, que não estava presente nas amostras antes da biocorrosão.

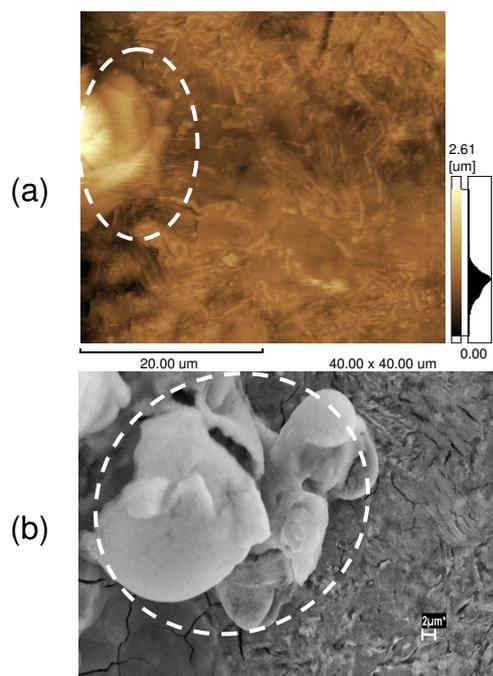


Figura 3: Micrografia bidimensional de (a) MFA e (b) MEV do aço AISI 300M após a exposição ao fungo *Penicillium candidum* com a presença de uma estrutura nova.

Alterações topográficas medidas por AFM mostraram que as escalas de alturas sofreram expressivo aumento. Os parâmetros de rugosidade  $R_a$  e  $R_z$  realçaram a intensidade das alterações pós-biocorrosão, em alguns casos variando em 464% e 108%, respectivamente.

Por outro lado, as amostras que ficaram em contato com o meio de cultura (caldo Sabouraud), mas que não foram inoculadas com a suspensão de esporos tiveram sua microestrutura preservada, tanto no que se refere à morfologia e topografia, quanto na composição química. Ou seja, o espectro de EDS não revelou presença de oxigênio sobre a superfície destas amostras.

### Discussão

A ausência de alterações morfológicas e topográficas sobre a superfície dos aços que não tiveram contato com o fungo comprova que o meio de cultura não tem propriedades corrosivas sobre o aço. Contudo, as amostras que estiveram em contato com o fungo apresentaram significativas alterações morfológicas e topográficas. A mensuração dos parâmetros de rugosidade Ra e Rz mostraram a magnitude da biocorrosão sobre as microestruturas bainíticas e a presença de oxigênio nas novas estruturas observadas é um forte indício de formação de óxidos durante o processo de biocorrosão.

Uma vez que apenas o meio de cultura (caldo *Sabouraud*), isoladamente, não foi capaz de causar alterações na superfície do aço AISI 300M, o fungo filamentosso *Penicillium candidum* atuou como um forte agente biocorrosivo para o aço, provocando expressivas alterações na superfície do metal.

### Conclusão

Neste trabalho, as técnicas microscópicas revelaram-se poderosas na avaliação dos efeitos do processo biocorrosivo sobre o aço AISI 300M, caracterizando as alterações topográficas e morfológicas após o contato com os metabólitos do fungo.

Dada a intensidade da corrosão gerada no metal, foi possível concluir que o fungo *Penicillium candidum* tem um alto potencial biocorrosivo para o aço 300M.

### Referências

- ANUNZIATO, P; TUSSOLINI, M; CAPARICA, R; FURSTENBERGER, C. B.; RODRIGUES P. R. P., A influência do *Thiobacillus thiooxidans* na corrosão do aço inoxidável 430 em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 mol L<sup>-1</sup>. **Revista Escola de Minas**, v.63, pp. 97-102, 2010.

- BELOV, D. V; SOKOLOVA, T. N.; SMIRNOV, V. F.; KUZINA, O. V.; KOSTYUKOVA, L. V.; KARTASHOV, V. R., Corrosion of aluminum and its alloys under the effect of microscopic fungi.

**Protection of Metals**, v. 44, n. 7, pp. 737-742, 2008.

- DA SILVA, R. C. B.; PONTES FILHO, T. R., Corrosão de aço carbono em meio sulfato na presença da bactéria *Salmonella anatum*. **Revista Matéria**, v. 13, n. 2, pp. 282-293, 2008.

- GALVÃO, M. M. **Efeito do potencial de proteção catódica na corrosão microbiologicamente induzida**. 2008. 108 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.

- HERRERA, L. K.; VIDELA, H. A., Role of iron-reducing bacteria in corrosion and protection of carbon steel. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 63, pp. 891-895, 2009.

- KASNOWSKI, M. C.; MANTILLA, S. P. S.; OLIVEIRA, L. A. T.; FRANCO, R. M., Formação de biofilme na indústria de alimentos e métodos de validação de superfícies. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v.15, pp. 89-93, 2010.

- SANTOS, A.O. **Estudo da resistência à corrosão em aço e revestimentos visando aplicação em hastes de bombeio de petróleo**. 2008. 143 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) – Universidade Tiradentes, Aracaju, 2008.

- SILVA, A. M. A.; SANTIAGO, T. M.; ALVES, C. R.; GUEDES, M. I. F.; FREIRE, J. A. K.; VIEIRA, R. H. S. F.; DA SILVA, R. C. B., An evaluation of the corrosion behavior of aluminum surfaces in presence of fungi using atomic force microscopy and other tests. **Anti-corrosion Methods and Materials**, v. 54, n. 5, pp 289-293, 2007.

- SMIRNOV, V. F.; BELOV, D. V.; SOKOLOVA, T. N.; KUZINA, O. V.; KARTASHOV, V. R., Microbiological corrosion of aluminum alloys. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 44, n. 2, pp 192-196, 2008.

- VIDELA, H. A. **Biocorrosão, biofouling e biodegradação de materiais**. São Paulo, Editora Edgard Blücher LTDA, São Paulo, 2003, p. 148.