



Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"

JOÃO ARTUR CARON PAVÃO

**CONTROLE MICROBIOLÓGICO NAS ÁGUAS DE RESFRIAMENTO
INDUSTRIAL.**

Assis
2013

JOÃO ARTUR CARON PAVÃO

CONTROLE MICROBIOLÓGICO NAS ÁGUAS DE RESFRIAMENTO
INDUSTRIAL

Trabalho de conclusão de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação em Química.

Orientador: Prof.^a Ms. Gilcelene Bruzon

Área de Concentração: Microbiologia.

Assis
2013

FICHA CATALOGRÁFICA

PAVÃO, João Artur Caron

Controle microbiológico nas águas de resfriamento industrial/
João Artur Caron Pavão. Fundação Educacional do Município de
Assis - FEMA -- Assis, 2013.

Orientador: Gilcelene Bruzon.

Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal de
Ensino Superior de Assis – IMESA.

1.Microrganismos. 2.Peróxido de hidrogênio. 3.Resfriamento

CDD:660
Biblioteca da FEMA

CONTROLE MICROBIOLÓGICO NAS ÁGUAS DE RESFRIAMENTO INDUSTRIAL

JOÃO ARTUR CARON PAVÃO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação em Química, analisado pela seguinte comissão examinadora:

Orientador: Prof.^a Ms. Gilcelene Bruzon.

Analisador: Prof.^a Dra. Silvia Maria Batista de Souza.

Assis
2013

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, José e Sandra (em memória) que sempre me apoiaram, me incentivaram, me deram um propósito e um caminho a seguir.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me guiar e sempre iluminar meus caminhos.

À professora Gilce pela orientação, compreensão, ajuda e pelo constante estímulo transmitido durante o trabalho.

Aos amigos de curso, em especial ao Clóvis, Marcelo, Rafael, Grazielle, Fernanda e Louisy, pela motivação e incentivo.

À minha namorada Talita que foi compreensiva e colaborou muito comigo.

À minha irmã Graziela que fiz de escrava na busca por bibliografia.

À minha família que sempre esteve ao meu lado nos momentos bons e ruins.

Aos professores do curso que me deram algo muito importante e que nunca vão tirar de mim que é o conhecimento.

E a todos que colaboraram direta e indiretamente para a conclusão deste trabalho.

O mais importante da vida não é a
situação em que estamos, mas a
direção para a qual nos movemos.

Oliver W. Holmes
(1809 - 1894)

RESUMO

Os microrganismos existentes nos sistemas de resfriamento de água industrial podem afetar de modo variado a eficiência de operação nestes sistemas, seja pela quantidade, seus produtos metabólicos ou pela formação de depósitos. A técnica de prevenção mais utilizada nas indústrias no tratamento de águas de resfriamento é com a adição de cloro, mais comumente na forma líquida através da adição de hipoclorito de sódio (NaClO) que em contato com a água forma ácido hipocloroso que possui ação biocida. Outra técnica que também pode ser utilizada como biocida é a adição de peróxido de hidrogênio, que em contato com a água vai se decompondo e liberando hidrogênio e água. O objetivo deste trabalho foi avaliar quantitativamente a ação biocida do cloro e do peróxido de hidrogênio, lembrando que ambos possuem mecanismos de ação distintos em diferentes classes de microrganismos. Para a avaliação da ação biocida, utilizou-se o método PCA (Ágar Padrão de Contagem) para contagem de UFC (Unidades Formadoras de Colônia). A partir da análise realizada, constatou-se que ambos os biocidas possuem ação semelhante quando comparados no tempo e nas concentrações testadas. O Peróxido de Hidrogênio demonstra maior efetividade após um período maior de contato com a amostra, já o Cloro apresenta ação semelhante em ambos os períodos de contato.

Palavras-chave: Microrganismos, Peróxido de Hidrogênio, Resfriamento.

ABSTRACT

The micro-organisms in cooling systems of industrial water can affect so varied operating efficiency in these systems is the amount, its products or metabolites for the formation of deposits. The prevention technique used in most industrial water treatment and cooling with the addition of chlorine, most commonly in liquid form by adding sodium hypochlorite (NaClO), which in contact with water forms hypochlorous acid which has biocidal action . Another technique that can also be used as a biocide is the addition of hydrogen peroxide, which in contact with water erodes and releasing hydrogen and water. The aim of this study was to evaluate quantitatively the biocidal action of chlorine and hydrogen peroxide, noting that both have distinct mechanisms of action in different classes of microorganisms. For the evaluation of biocide action, we used the PCA method (Standard Count Agar) for counting CFU (colony forming units). From the analysis, it was found that both biocides have similar action in time and compared the concentrations tested. Hydrogen peroxide demonstrates greater effectiveness after a longer period of contact with the sample, since chlorine has similar action in both periods of contact.

Key-Words: Microorganisms, Hydrogen Peroxide, Cooling.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– Reação de decomposição do bicarbonato de cálcio.....	19
Figura 2	– Formação de Biofilme.....	26
Figura 3	– Reação de redução de sulfato a sulfeto.....	27
Figura 4	– Reação de formação de Ácido Sulfúrico a partir de enxofre elementar.....	27
Figura 5	– Ilustração dos sistemas de resfriamento: Sistema aberto.....	31
Figura 6	– Ilustração dos sistemas de resfriamento: Sistema semi-aberto com recirculação de água.....	33
Figura 7	– Ilustração dos sistemas de resfriamento: Sistema Fechado com recirculação de água.....	34
Figura 8	– Reação de formação do ácido hipocloroso.....	36
Figura 9	– Diagrama de Concentração (%) de Compostos Clorados em Função do pH em Meio Aquoso.....	36
Figura 10	– Molécula do glutaraldeído.....	38
Figura 11	– Estrutura dos sais quaternários de amônio.....	39
Figura 12	– Estrutura da 1,2-benzisotiazolin-3-ona.....	40
Figura 13	– Erlenmeyers contendo 100 mL de amostra com as concentrações de biocida já dosadas.....	46
Figura 14	– Esquema de diluição e inoculação das amostras.....	46
Figura 15	– Placas com as concentrações dos biocidas de 6,5 ppm, 8,5 ppm e 10,5 ppm com tempo de contato de duas (2) horas.....	48
Figura 16	– Placas com as concentrações dos biocidas de 6,5 ppm, 8,5 ppm e 10,5 ppm com tempo de contato de cinco (5) horas.....	49

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	14
2.	ÁGUA DE RESFRIAMENTO.....	16
2.1	PROCESSOS QUE EXIGEM OPERAÇÕES DE RESFRIAMENTO.....	17
2.2	PROBLEMAS EM UM SISTEMA DE RESFRIAMENTO	17
2.2.1	Corrosão.....	17
2.2.2	Incrustações e Depósitos.....	18
2.2.3	Crescimento Microbiano.....	20
3	MICROORGANISMOS EM ÁGUAS DE RESFRIAMENTO... 21	
3.1	TIPOS DE MICROORGANISMOS.....	21
3.2	FATORES QUE INFLUENCIAM NO DESENVOLVIMENTO DOS MICROORGANISMOS.....	23
3.1.1	Nutrientes.....	23
3.1.2	pH.....	23
3.1.3	Temperatura.....	23
3.1.4	Luz solar.....	23
3.1.5	Oxigênio dissolvido.....	24
4	BIOFILME.....	25
5	CORROSÃO MICROBIOLÓGICA.....	27

6	SISTEMAS DE RESFRIAMENTO.....	29
6.1	SISTEMAS ABERTOS SEM RECIRCULAÇÃO.....	29
6.2	SISTEMAS SEMI-ABERTOS OU ABERTOS COM RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA.....	32
6.3	SISTEMAS FECHADOS.....	34
7	TRATAMENTO DAS ÁGUAS DE RESFRIAMENTO.....	35
7.1	BIOCIDAS OXIDANTES.....	35
7.1.1	Cloro.....	35
7.1.2	Ozônio.....	37
7.1.3	Peróxido de Hidrogênio.....	37
7.2	BIOCIDAS NÃO OXIDANTES.....	38
7.2.1	Glutaraldeído.....	38
7.2.2	Sais Quaternários de Amônio.....	39
7.2.3	Isotiazolonas.....	40
8	APLICABILIDADE DO CONCEITO DE BIOCIDA NO ENSINO MÉDIO.....	41
8.1	EXPERIMENTO: AÇÃO DA ÁGUA SANITÁRIA COMO BIOCIDA.....	42
8.1.1	Objetivo.....	42
8.1.2	Materiais.....	42
8.1.3	Procedimento.....	42
9	MATERIAIS E MÉTODOS.....	44

9.1	MATERIAIS.....	44
9.1.1	Equipamentos.....	44
9.1.2	Amostras.....	44
9.2	METODOLOGIA.....	44
9.2.1	Amostragem.....	44
9.2.2	Preparação.....	44
10	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
11	CONCLUSÃO.....	52
	REFERÊNCIAS.....	53

1. INTRODUÇÃO

Os microrganismos existentes nos sistemas de resfriamento de água industrial podem afetar de modo variado a eficiência de operação nestes sistemas, seja pela quantidade, por seus produtos metabólicos ou pela formação de depósitos (TANJI; NISHIHARA; MIYANAKA, 2007).

Como resultado da atividade microbiológica nas águas de resfriamento, ocorre o acúmulo de limo bacteriano (biofouling ou biofilme) o que com o decorrer do tempo pode causar problemas de corrosão generalizada, obstrução de fluxos e diminuição da eficiência de troca térmica nos equipamentos (TANJI; NISHIHARA; MIYANAKA, 2007).

A técnica mais comum utilizada para prevenção e remoção do biofilme, é a adição de substâncias biocidas capazes de eliminar e/ou inibir a reprodução de microrganismos. Os biocidas são compostos químicos que agem de diversas formas, inibindo o crescimento e a atividade metabólica dos microrganismos (MELO; BOTT, 1997).

Grande parte das indústrias utiliza o cloro como biocida no tratamento de águas de resfriamento, tanto na forma de cloro gás solubilizado (Cl_2) como na forma líquida, através da adição do hipoclorito de sódio (NaClO). O cloro mostra-se extremamente eficaz na redução da contaminação microbiana em águas de resfriamento. Sua ação biocida está baseada na formação do ácido hipocloroso, resultante da adição de cloro à água (PERES et al, 2008).

O ácido hipocloroso formado, dependendo do pH, dissocia-se gerando H^+ e íon hipoclorito ClO^- . O processo de cloração deve ser efetuado numa faixa de pH abaixo de 8, onde predomine o ácido hipocloroso. O íon hipoclorito também possui ação biocida, porém muito menos eficaz. Logo, à medida que o pH da água aumenta, o poder do cloro de oxidar e desinfetar diminui (PERES et al, 2008).

O cloro apresenta a desvantagem de gerar subprodutos que podem diminuir a sua eficiência no combate aos microrganismos e que podem ser tóxicos ao corpo d'água que irá receber as descargas do sistema de resfriamento, tais como as cloroaminas e substâncias organocloradas. Além disso, o cloro é um composto oxidante e tende a provocar a incidência de processos corrosivos nos sistemas de resfriamento (CHELOSSI; FAIMALI, 2006).

O peróxido de hidrogênio é um produto muito utilizado no tratamento de águas e efluentes industriais, apresentando uma reconhecida eficiência como bactericida e algicida. Todavia, ainda é muito pouco utilizado apenas como biocida no tratamento de águas de resfriamento. Apresenta um menor custo em relação aos biocidas clorados e o fato de se decompor formando água e hidrogênio o torna menos nocivo ao ambiente. A sua aplicação é mais simples e mais segura quando comparada ao cloro. Por ser um forte oxidante, o peróxido de hidrogênio também causa corrosão de materiais (PERES et al, 2008).

O peróxido de hidrogênio se decompõe gradualmente em meio aquoso liberando moléculas de oxigênio e água, já o cloro se decompõe em subprodutos que além de diminuir sua eficiência biocida, também podem ser tóxicos ao rio ou lago que irá receber as descargas industriais (PERES et al, 2008).

Esse trabalho tem como objetivo comparar o desempenho do cloro e do peróxido de hidrogênio como biocida no tratamento de águas de resfriamento.

2. ÁGUA DE RESFRIAMENTO

A água de resfriamento é destinada a absorver e conduzir o calor de um equipamento. O tratamento desta água tem como objetivo prevenir a corrosão, “fouling” (incrustação) e crescimentos biológicos, que poderão diminuir a vida útil dos equipamentos e interferir na eficiência de troca térmica dos sistemas de resfriamento (DANTAS, 1988).

Os depósitos de carbonato de cálcio normalmente encontrados em trocadores de calor apresentam os seguintes fatores “fouling” apresentados na tabela 1.

Coluna de CaCO_3	Fator fouling
0,000 mm	LIMPO
0,150 mm	0,0005
0,300 mm	0,0010
0,600 mm	0,0020
0,900 mm	0,0030

Tabela 1 – Relação crosta de carbonato de cálcio x fator fouling (DANTAS, 1988).

Para um fator “fouling” de 0,0020 correspondente a uma crosta de carbonato de cálcio com espessura de 0,6 mm, o aumento no consumo de energia será de 22% (DANTAS, 1988).

2.1 - PROCESSOS QUE EXIGEM OPERAÇÕES DE RESFRIAMENTO

São inúmeros os processos industriais que necessitam de remoção de calor utilizando a água como meio de resfriamento, dentre os quais podemos citar; operações siderúrgicas, metalúrgicas, fundições, usinagens, resfriamento de fornos, moldes, formas, resfriamento de reatores químicos, bioquímicos e nucleares, condensação de vapores em operações de destilação e evaporadores, colunas barométricas, descargas de turbinas de instalações termelétricas e nucleares, resfriamento de compressores e gases frigoríficos em circuitos de refrigeração (condensadores evaporativos), incluindo operações de ar condicionado e de frio alimentar, arrefecimento de mancais, peças, partes móveis, lubrificantes, rotores e inúmeras máquinas e equipamentos, resfriamento dos mais variados fluidos (líquidos e gases) em trocadores de calor, entre muitas outras aplicações (TROVATI, 2004).

2.2 PROBLEMAS EM UM SISTEMA DE RESFRIAMENTO

Os problemas normalmente encontrados em sistemas de resfriamento industrial são três; corrosão, depósitos e incrustações, crescimento microbiano (BETZDEARBORN, 1991).

2.2.1 Corrosão

A corrosão é um dos grandes causadores de prejuízo em sistemas de resfriamento industrial. Os equipamentos de troca térmica e as tubulações são intensamente atacados por processos corrosivos, o que resulta em um menor tempo útil dessas partes do sistema e transtornos para a substituição dos mesmos, tal como paradas na indústria (BETZDEARBORN, 1991).

Corrosão pode ser definida de maneira prática como a deterioração de um metal causado pela reação com o meio circundante do mesmo. Como a utilização da água é mais comum como fluido de transferência térmica, é comum que os problemas de corrosão e depósitos em sistemas de resfriamento, sejam associados a água. Gases dissolvidos (oxigênio, dióxido de carbono, amônia, cloro), íons dissolvidos (cálcio, magnésio, cloretos, sulfatos, bicarbonatos) e sólidos suspensos conferem a água uma característica mais agressiva quando comparada a água desmineralizada (NALCO, 1979).

Poucos minutos após o aço entrar em contato com a água, áreas anódicas e catódicas são formadas na superfície do mesmo devido a sua heterogeneidade. A corrosão do ferro, de outras ligas metálicas e de metais em meio aquoso, procedem da combinação das reações anódicas e catódicas ocorrendo sobre uma mesma superfície. Na corrosão eletroquímica, os elétrons são cedidos em uma determinada região e recebidos em outra, formando assim uma pilha de corrosão. O processo de corrosão eletroquímico pode ser composto de três etapas principais; processo anódico, onde ocorre a passagem dos íons para a solução, deslocamento de elétrons e íons, transferência de elétrons das regiões anódicas para as regiões catódicas e uma difusão de íons na solução, processo catódico, onde ocorre a recepção de elétrons na área catódica pelos íons e moléculas existentes na solução (SOUZA, 2007).

2.2.2 Incrustações e Depósitos

As incrustações, conhecidas também como "crostas" são definidas como um crescimento cristalino de uma camada aderente de sais insolúveis ou óxidos numa superfície do trocador de calor. A taxa de formação das incrustações é uma função complexa de muitas variáveis, incluindo temperatura, concentração das espécies envolvidas (sais insolúveis ou óxidos), pH, qualidade da água e condições hidrodinâmicas.

O aumento da temperatura faz com que a solubilidade das incrustações também aumentem. Algumas incrustações, como o carbonato de cálcio (CaCO_3) e sulfato de cálcio (CaSO_4), tem uma tendência contrária (BOFFARDI, 2001).

Infelizmente, esses depósitos são encontrados com grande frequência nos sistemas de resfriamento industrial. Quando são aplicados inibidores de corrosão à base de fósforo e zinco com controle inadequado, há chances de ocorrer incrustações com fosfatos de cálcio e zinco (BETZDEARBORN, 1991).

A presença de bicarbonato de cálcio ($\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$) na água de resfriamento auxilia na formação de uma crosta tenaz. Sendo assim, um aumento no pH e /ou temperatura pode causar a decomposição de íons de bicarbonato (HCO_3) em dióxido de carbono (CO_2) e carbonato de Cálcio (CaCO_3). O sal fica concentrado nas superfícies mais quentes do trocador de calor, conforme a reação da figura 1:

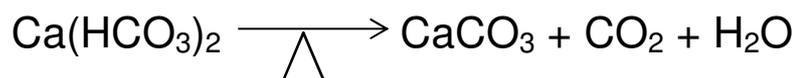


Figura 1 – Reação de decomposição do bicarbonato de cálcio (In: BETZDEARBORN, 1991).

Os depósitos em um sistema de resfriamento são formados por sedimentação de sólidos em suspensão na água. Essas partículas em suspensão geralmente são de matéria orgânica e/ou inorgânica, eventualmente associam-se às incrustações dando origem a depósitos de natureza mista (BETZDEARBORN, 1991).

São várias as fontes de causadores de depósitos e de contaminação nos sistemas de resfriamento das quais podemos citar, partículas de argila e matéria orgânica que são incorporadas ao sistema de resfriamento pelo ar e pela água de reposição, compostos de ferro originalmente solúveis que, ao serem oxidados insolubilizam-se e depositam-se, produtos de corrosão da tubulação de água de reposição. (BETZDEARBORN, 1991).

Os sistemas de resfriamento de água industrial são ótimas incubadoras para a proliferação e desenvolvimento de microrganismos. A água saturada em oxigênio, com alta incidência de luz solar, mantida em uma temperatura de 30-60°C, um pH na faixa de 6,0 a 9,0 e nutrientes em abundância sustentam o crescimento de

microrganismos. Ainda que os depósitos biológicos interfiram na eficiência de troca térmica, eles o fazem de um modo relativamente diferenciado dos depósitos inertes (BETZDEARBORN, 1991).

2.2.3 Crescimento Microbiano

O habitat natural de milhares de seres vivos, desde microrganismos unicelulares até animais superiores é a água. Com o uso generalizado de água nas atividades humanas, deparamo-nos com um problema de difícil resolução: o desenvolvimento de organismos na água que utilizamos e todas as consequências que tal crescimento pode gerar. Em sistemas de resfriamento, isto não é diferente. O crescimento exagerado de microrganismos é sem dúvida um dos grandes problemas encontrados nestes sistemas. Os prejuízos de ordem técnica e econômica são significativos e severos (TROVATI, 2004).

3. MICRORGANISMOS EM ÁGUAS DE RESFRIAMENTO

O crescimento da população microbiológica é um dos grandes problemas encontrados em águas de resfriamento de uma indústria, causando uma série de danos de ordem econômica e técnica. Segundo Trovati (2004), podem-se citar os seguintes problemas pelo acúmulo de microrganismos como, depósitos (ocorrência de depósitos sobre superfícies de troca térmica que podem diminuir as taxas de transferência de calor no sistema), entupimento (Obstrução de tubos, bicos, válvulas, equipamentos, acessórios, entre outros diminuem a eficiência do processo restringindo a vazão), corrosão (Os depósitos de micro-organismos sobre superfícies metálicas aumentam a incidência de processos corrosivos, favorecendo as reações que os constituem e alguns dos microrganismos são causadores diretos de corrosão, como as bactérias redutoras de sulfatos) e biofouling (algumas substâncias orgânicas excretadas por alguns microrganismos pode se combinar com material inorgânico e formar incrustações aderentes em tubulações).

3.1 TIPOS DE MICROORGANISMOS

Cada classe de microrganismos presente nas águas de resfriamento apresenta particularidades em sua morfologia e fisiologia. Na Tabela 2 estão apresentados os principais tipos de microrganismos e alguns detalhes.

Organismo	Classificação	Fontes de energia e Nutrientes	Principais problemas
Bactérias aeróbias ou anaeróbias	Formadoras de Biofilme Depositantes de ferro Redutoras de Sulfatos Anaeróbias corrosivas	Diversos compostos orgânicos e inorgânicos; fazem quimiossíntese.	Depósitos densos e aderentes. Oxidação do ferro e deposição de óxidos insolúveis. Reduzem sulfatos a sulfetos causando severa corrosão. Secretam substâncias corrosivas.
Fungos	Leveduras e fungos filamentosos	Material orgânico	Degradação da madeira e obstrução de tubos de válvulas; degradam matéria orgânica gerando odor.
Algas	Unicelulares e superiores	Luz solar	Obstrução de tubos e válvulas; deposição sobre os recheios.

Tabela 2- Classes de micro-organismos, nutrientes e danos causados. (TROVATI, 2004).

síntese de matéria orgânica, os microrganismos podem ser classificados em autotróficos ou heterotróficos. Os autotróficos podem ser quimiosintéticos, obtendo energia da oxidação de compostos inorgânicos; um exemplo é a *Gallionella*, uma bactéria oxidante do ferro ou fotossintéticos, obtendo energia da radiação solar, sintetizam matéria orgânica e material celular a partir do dióxido de carbono e da água, um exemplo são as algas (VIDELA, 2003).

De acordo com a necessidade de oxigênio, os microrganismos podem ser divididos em aeróbio (utilizam oxigênio para seu metabolismo) e anaeróbios (se desenvolvem na ausência de oxigênio). Existem também os microrganismos facultativos capazes de crescer em ambas as condições (VIDELA, 2003).

3.2 FATORES QUE INFLUENCIAM NO DESENVOLVIMENTO DOS MICRORGANISMOS

Vários fatores químicos e físicos contribuem para o desenvolvimento de condições ideais para o crescimento de micro-organismos de diversas classes em águas de resfriamento. Os fatores mais influentes são: nutrientes, pH, temperatura, luz solar, oxigênio dissolvido (VIDELA, 2003).

3.1.1 Nutrientes

Incontáveis compostos orgânicos e inorgânicos como açúcares, aminoácidos, amônia, fosfatos, nitratos potássio, sódio, podem ser utilizados no metabolismo e reprodução dos micro-organismos (TROVATI, 2004).

3.1.2 pH

Grande parte das bactérias crescem em pH neutro ou ligeiramente alcalino, enquanto as algas desenvolvem-se melhor em pH ligeiramente ácido (PEREIRA, 2001).

3.1.3 Temperatura

Fator de grande influência para o desenvolvimento de qualquer ser vivo. Nos processos de resfriamento, há uma grande variação de temperatura ao longo do circuito, favorecendo assim o desenvolvimento de certas espécies. As bactérias em geral, preferem temperaturas entre 35 e 40° C (PERES et al, 2008).

3.1.4 Luz Solar

A incidência de luz solar contribui para o desenvolvimento de seres clorofilados como as algas. Nos processos de resfriamento temos as bacias das torres de resfriamento expostas à luz solar (TROVATI, 2004).

3.1.5 Oxigênio Dissolvido

O oxigênio dissolvido favorece o aumento da população dos seres aeróbicos nas águas de resfriamento. Também é comum nos sistemas de resfriamento áreas com baixa circulação de água, sob depósitos ou colônias de microrganismos aeróbicos onde se criam zonas com ausência de oxigênio, favorecendo assim o desenvolvimento de micro-organismos anaeróbicos (PERES et al, 2008).

4. BIOFILME

Comunidade de microrganismos cercados pela lama que secretam, agregados tanto em uma superfície tanto inanimada como viva. Forma-se biofilme em todo lugar que a superfície entra em contato com água. Algumas são benéficas como plantas de tratamento de esgoto, por exemplo. Mas biofilmes podem também causar problemas corroendo tubulações, obstruindo filtros de água, causando rejeição de implantes médicos, e bactérias perigosas que contaminam água potável (DREESZEN, 2003).

Na forma planctónica os microrganismos encontram-se em suspensão e dispersos no meio aquoso, já na forma sésil, os microrganismos encontram-se aderidos a superfícies sólidas na forma de biofilmes. Referindo-se ao crescimento e à resistência aos agentes biocidas, os microrganismos associados em biofilmes têm um comportamento diferente dos microrganismos na forma planctónica. Os mecanismos responsáveis pela resistência das bactérias dos biofilmes aos agentes biocidas podem estar relacionados com limitações à passagem do agente pela matriz extracelular, com alterações fenotípicas das células no biofilme e ainda com o desenvolvimento de mecanismos de resistência por mutação do genótipo das células microbianas.

Estima-se que mais do que 90% dos microrganismos vivem sob a forma de biofilmes e praticamente não existe nenhuma superfície que não possa ser ou vir a ser colonizada por bactérias. A composição dos biofilmes é dependente das condições do meio (como a temperatura, pressão, pH e oxigênio dissolvido) e não é necessariamente constituída apenas de microrganismos, podendo até englobar partículas sólidas (argilas, areias, partículas orgânicas) provenientes do meio aquoso onde está imerso. Um biofilme é considerado uma estrutura muito adsorvente e porosa (possui canais de água e poros) devido a ser constituído essencialmente por água (pois contém cerca de 80 a 95% de água). Os microrganismos representam somente uma parte da massa de biofilme que, frequentemente, é menor que 10%. As substâncias poliméricas extracelulares ("Extracellular Polymeric Substances" - EPS) formam um emaranhado que envolve

todas as células microbianas representam cerca de 70 a 95% da matéria orgânica da massa seca do biofilme. A figura 2 mostra as etapas de formação de biofilme que são:

- 1 - Transporte de células livres do meio líquido para uma superfície sólida e fixação;
- 2 - Crescimento e divisão de células fixas devido a nutrientes provenientes do líquido circundante, conjuntamente com a produção e excreção de EPS;
- 3 - Fixação de células bacterianas flutuantes (e outras partículas), contribuindo para a acumulação do biofilme;
- 4 - Liberação de material celular por vários tipos de mecanismos: (a) erosão superficial (perda de células individuais), (b) descolamento ("sloughing off"), (c), abrasão e (d) ataque por predadores (MACHADO, 2005).

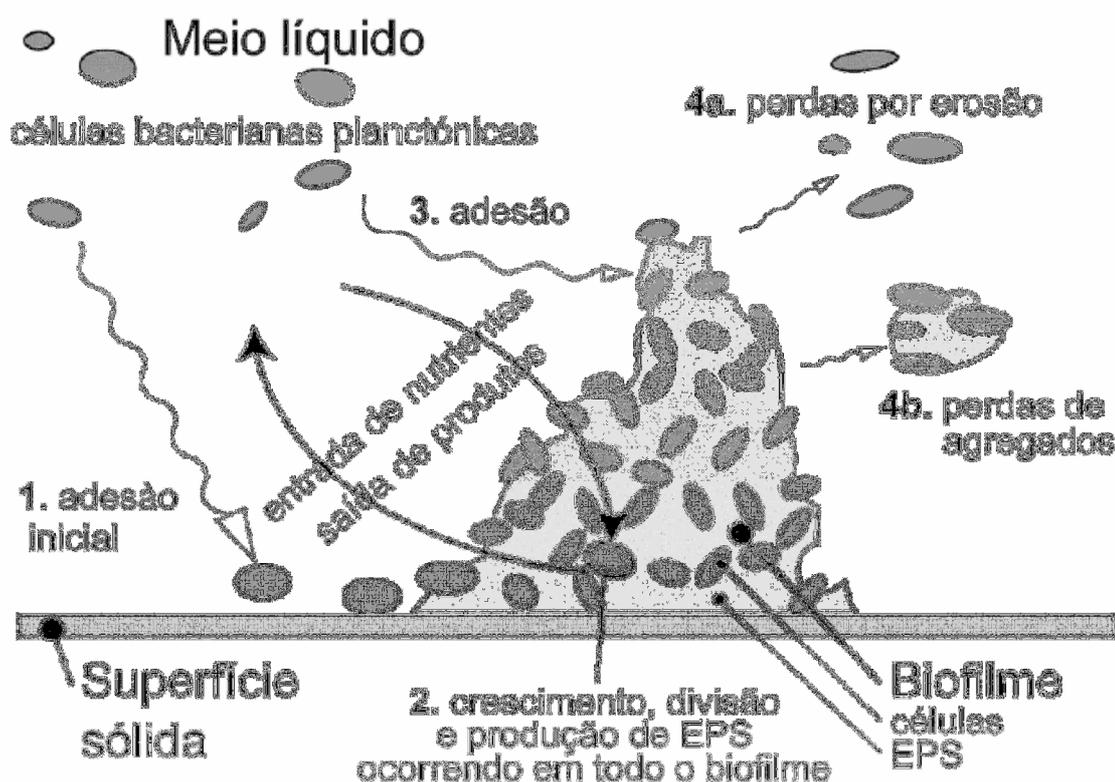


Figura 2 – Formação de Biofilme (In: MACHADO, 2005).

5. CORROSÃO MICROBIOLÓGICA

Deterioração de um material devido à presença de organismos vivos que podem ser micro (bactérias) ou macro (algas). Estes organismos têm sido observados em uma faixa ampla de pH e de temperatura. Estão presentes em uma grande variedade de meios, tais como água do mar, rios, regiões pantanosas, solos com resíduos orgânicos ou sais de sulfatos, nitratos, fosfatos ou enxofre, sedimentos oleosos e sistemas de refrigeração. Os microrganismos são classificados de acordo com sua capacidade de crescimento em meio com oxigênio (aeróbicos) ou sem oxigênio (anaeróbicos). Dentre as bactérias mais comumente associadas à corrosão, destaca-se a *Dessulfovíbrio dessulfuricans* que reduz sulfato a sulfeto, por isso denominada bactéria redutora de sulfato (BRS), pela reação mostrada na figura 3:



Figura 3 – Reação de redução de sulfato a sulfeto (In: DANTAS,1988).

O sulfeto gerado tende a acelerar a corrosão do material obtendo como produto de corrosão um precipitado do íon sulfeto combinado com Fe^{+2} (FeS) (SEATECH, 2012).

As bactérias aeróbicas são capazes de oxidar elementos contendo enxofre a ácido sulfúrico (H_2SO_4) segundo a reação mostrada na figura 4:



Figura 4 – Reação de formação de Ácido Sulfúrico a partir de Enxofre elementar e Oxigênio.

Tais organismos necessitam da presença de enxofre em sua forma elementar ou combinada, criando um ambiente fortemente corrosivo e ácido (pH= 2-3). Existem outros tipos de microrganismos que agem direta ou indiretamente sobre o processo

de corrosão, como é o caso das bactérias que utilizam hidrocarbonetos como fonte de alimentos, bactérias capazes de oxidar amônia a ácido nítrico ou bactérias que assimilam o íon ferroso (Fe^{2+}) em solução e precipitam como hidróxidos de ferro. Alguns casos típicos de ataque microbiológico se referem à formação de sulfeto de cobre (CuS) em aquecedores e válvulas de cobre ou ligas pela presença de BRS. A eliminação da água dos tanques de armazenamento ou o uso de biocidas, embora de difícil dosagem, são métodos de combate a este processo (SEATECH, 2012).

6. SISTEMAS DE RESFRIAMENTO

O sistema de refrigeração industrial é composto basicamente por compressores, trocadores de calor e equipamentos destinados ao afastamento de energia térmica, utilizando elementos refrigerantes como o ar (ventiladores - exaustores) ou a água (no caso de torres de resfriamento). Nos sistemas refrigerados que utilizam água em trocas térmicas, os padrões de qualidade dessa água de alimentação são menos exigentes que os padrões de potabilidade (Portaria MS 2914/2011 e Resolução Estadual SS-65/2005), considerando-se que para tal finalidade a prioridade é manter a integridade dos equipamentos e linhas hidráulicas, evitando danos nos equipamentos e tubulações. Desta forma, o reuso de água nesses sistemas possibilita a preservação de mananciais de abastecimento de água de consumo humano (MANCUSO, MANFREDINE, 2003).

Os sistemas de refrigeração à água classificam-se em três classes gerais, sistemas abertos sem recirculação de água, sistemas abertos com recirculação de água, utilizando para dissipar o calor da água, torres de refrigeração, piscinas com pulverização e condensadores evaporativos, sistemas de refrigeração fechados, com recirculação de água fria, quente ou misturas anti-congelantes (DANTAS, 1988).

6.1 SISTEMAS ABERTOS SEM RECIRCULAÇÃO

Nestes sistemas, a água é imediatamente descartada, após absorção do calor. Devido ao grande consumo de água, somente indústrias localizadas junto aos grandes mananciais, utilizam este sistema. Refinarias de Petróleo, Indústrias Químicas e Petroquímicas, Usinas Termoelétricas etc., quando localizadas no litoral, geralmente utilizam água do mar (DANTAS, 1988).

Estes sistemas apresentam uma série de problemas, causados por sólidos suspensos, sais, gases dissolvidos e desenvolvimento microbiológico na água utilizada (DANTAS, 1988).

Quando a água utilizada na refrigeração não é previamente decantada para remoção de partículas menores, tais como silt e coloidais, é a principal causa de depósitos no sistema. Estas partículas quando em suspensão, provocam erosão nas paredes dos equipamentos e em áreas de estagnação, depósitos que restringem o volume de água circulada e contribuem para a formação de pilhas de aeração diferencial (DANTAS, 1988).

A formação de crosta é decorrente da existência de sais dissolvidos na água do sistema, que em determinadas condições se cristalizam na superfície de resfriamento. Não havendo neste tipo de sistema concentração da água utilizada, poderá haver formação de crostas. O conhecimento de tendência de uma água para ser incrustante, poderá ser obtido comparando o conteúdo de cálcio com o conteúdo de cálcio desta mesma água saturada com carbonato de cálcio (DANTAS, 1988).

Um método para exprimir a tendência da água ser incrustante ou corrosiva é o de Langelier. Ele definiu Índice de saturação como a diferença algébrica entre o pH medido de uma água e o pH calculado desta mesma água à saturação com carbonato de cálcio.

Índice de Saturação = pH atual – pH saturação

Um índice de saturação positivo indica a tendência da água depositar carbonato de cálcio, e um índice negativo, a tendência em dissolver carbonato de cálcio existente, ou seja, uma corrosiva. Quando o índice é igual a ZERO, há equilíbrio de saturação, não havendo formação de crostas e diminuindo sensivelmente o ataque corrosivo. Um exemplo desse sistema é mostrado na figura 5 (DANTAS, 1988).

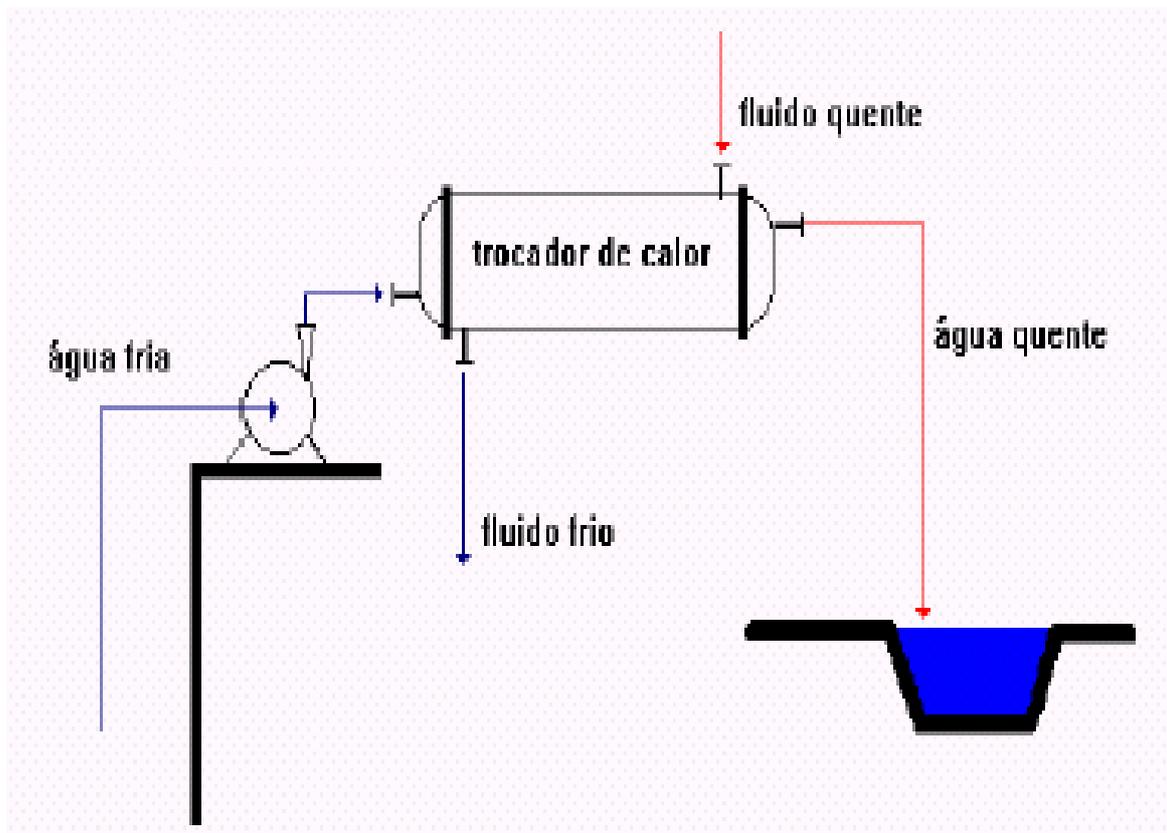


Figura 5 – Ilustração dos sistemas de resfriamento: Sistema aberto (In: ÁVILA, 2013).

6.2 SISTEMAS SEMI-ABERTOS OU ABERTOS COM RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA

Um sistema semi-aberto (“Open Recirculating System”) é utilizado quando existe uma demanda elevada de água e disponibilidade limitada, principalmente em locais onde a qualidade da mesma é baixa. Após passar pelos equipamentos de troca térmica que devem ser resfriados, a água aquecida circula através de uma instalação de resfriamento (torre, lagoa, “spray-ponds”,etc.) para reduzir sua temperatura e tornar-se própria para a reutilização. Este sistema apresenta um custo inicial elevado, porém resolve o problema de possível escassez de água, possibilita menor volume de captação e evita o transtorno da poluição térmica. Também pode ser submetido a um tratamento químico adequado, capaz de manter o sistema em condições operacionais satisfatórias e, com isto, reduzir os custos operacionais do processo. Alguns exemplos deste sistema são as torres de resfriamento, condensadores evaporativos e “spray-ponds” (reservatórios onde a água a ser resfriada é pulverizada e resfriada naturalmente pelo próprio ar que a circunda) (TROVATI, 2004).

Quando a água quente do sistema entra em contato com o ar, um fluxo espontâneo de calor passa desta água para o ar frio. A quantidade de calor que é transferido por este mecanismo é denominado calor sensível. O resfriamento da água pelo calor sensível é ineficiente e pode atingir numa torre 15 a 25% do calor total transferido. O calor predominante da ordem de 85 a 75% existente na água é transferido por evaporação e é denominado calor latente. Sabendo-se que o calor de evaporação da água é de 9,72 kcal/mol, temos que a evaporação de uma molécula grama de água é responsável pelo abaixamento de temperatura de 1° c em 9,72 kg da mesma. Na prática dizemos que para uma evaporação de 1% sobre o volume de água circulada, corresponde a um abaixamento de sua temperatura em 5,5° c. Assim, numa torre de refrigeração ou em piscinas, parte da água circulada é evaporada, a fim de que a temperatura da água circulante seja reduzida. A fim de compensar num sistema a água evaporada e os respingos, uma quantidade de água deverá entrar no sistema, como água de reposição ou compensação. Muitas vezes, o ciclo de concentração limitado pelos respingos é bastante elevado, os sais existentes na água poderão provocar corrosão e incrustações nos sistemas. Nestes

casos, a remoção de uma determinada quantidade de água, denominada purga, é feita para manter o ciclo de concentração num valor desejado. Purgas no sistema poderão ser programadas e não programadas. A figura 6 exemplifica esse tipo de sistema de resfriamento (DANTAS, 1988).

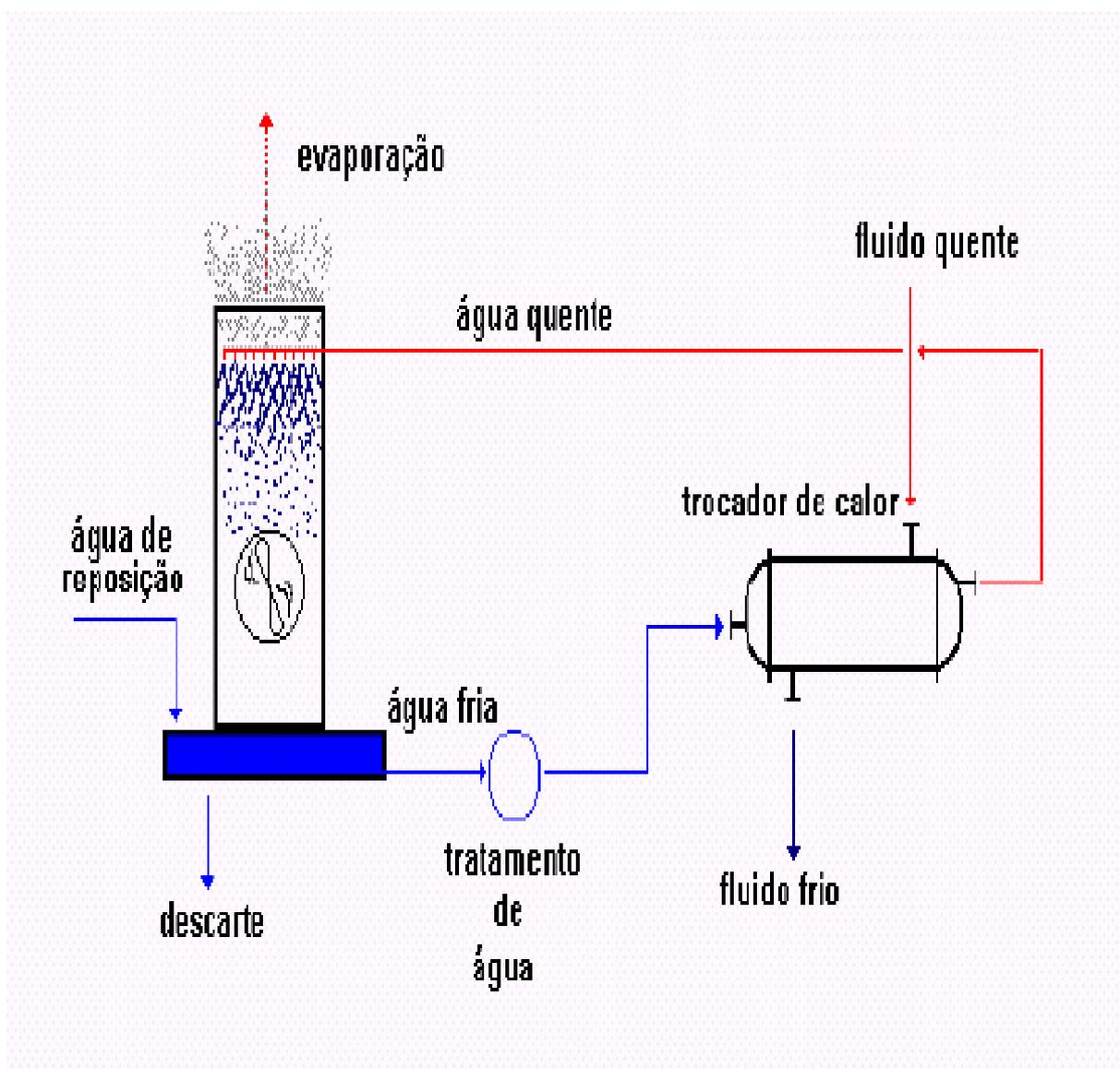


Figura 6 – Ilustração dos sistemas de resfriamento: Sistema semi-aberto com recirculação de água (In: ÁVILA, 2013).

6.3 SISTEMAS FECHADOS COM RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA

Sua aplicação é em operações onde a água deve ser mantida a temperaturas inferiores às conseguidas pelos sistemas de refrigeração semi-abertos. Nesse sistema, onde a perda de água é mínima, o material passado pela água (sais) é extremamente limitado, assim os depósitos minerais são muito menores que nos sistemas abertos (SOUZA, 2007).

Neste sistema, a água (ou outro meio) é resfriado em um trocador de calor e não entra em contato com o fluido de resfriamento. Alguns exemplos que utilizam este sistema são: circuitos fechados para resfriamento de compressores, turbinas a gás, instalações de água gelada, radiadores de motores a combustão interna (automóveis, caminhões, tratores, máquinas estacionárias) e algumas instalações de ar condicionado e refrigeração. A figura 7 mostra um exemplo deste sistema (TROVATI, 2004).

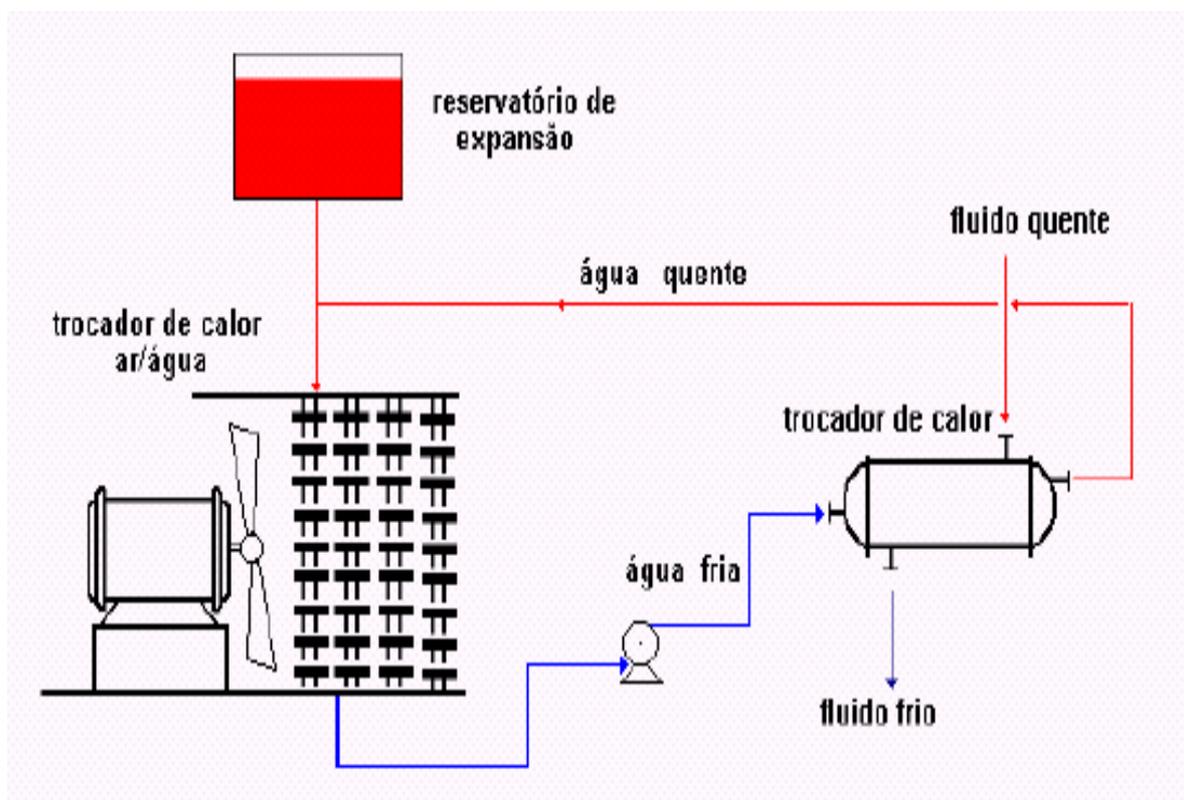


Figura 7 – Ilustração dos sistemas de resfriamento: Sistema Fechado com recirculação de água (In: ÁVILA, 2013)

7. TRATAMENTO DAS ÁGUAS DE RESFRIAMENTO

O método mais utilizado para combater os microrganismos nas águas de resfriamento é por desinfecção direta da água, realizada por adição de produtos químicos denominados biocidas. Os biocidas podem ter ação específica sobre determinado tipo de microrganismo, assim são denominados de acordo com a classe de ataque: fungicidas, algicidas e bactericidas. Ou podem ter ação sobre vários tipos de micro-organismos indistintamente (TELANG et al, 1998).

A ação dos biocidas está baseada na anulação do crescimento e/ou atividade metabólica microbiana, assim tende a controlar ou eliminar os microrganismos presentes na água de resfriamento (TELANG et al, 1998).

Os biocidas são classificados como oxidantes e não oxidantes. Biocidas não oxidantes atacam seletivamente alvos particulares dentro da célula. Biocidas oxidantes agem, normalmente, oxidando a matéria orgânica presente nas células (TELANG et al, 1998).

7.1 BIOCIDAS OXIDANTES

Sua ação baseia-se na oxidação da matéria orgânica presente nos seres vivos, destruindo suas estruturas vitais e assim causando a morte. Os principais representantes dessa classe são o cloro, o ozônio e o peróxido de hidrogênio (PERES et al, 2008).

7.1.1 Cloro

O cloro é o desinfetante mais utilizado no tratamento de águas industriais e água potável. É um produto de fácil aplicação e custo relativamente baixo. O cloro é

utilizado na forma de cloro gasoso (Cl_2), hipoclorito de sódio ou de cálcio (NaClO ou $\text{Ca}(\text{ClO})_2$) e dióxido de cloro (ClO_2) (PERES et al, 2008).

A ação biocida dos compostos clorados, com exceção do dióxido de cloro, está baseada na formação do ácido hipocloroso (HClO) resultante da adição de cloro à água de acordo com as equações 1 e 2 mostradas na figura 8 (MACEDO, 2004).

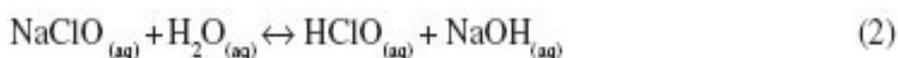


Figura 8 – Reação de formação do ácido hipocloroso (In: MACEDO, 2004).

A eficiência do processo de cloração é extremamente dependente do pH, restringindo assim a operação a valores menores que 8 como pode ser observado no gráfico da figura 9.

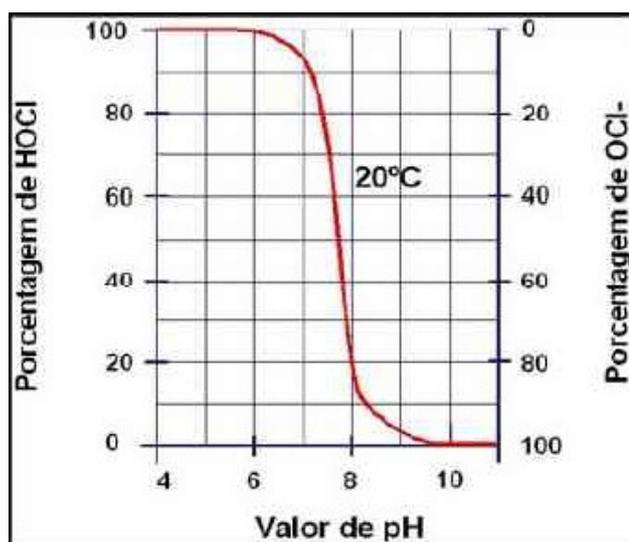


Figura 9 - Diagrama de concentração (%) de compostos clorados em função do pH em meio aquoso (In: SANTOS, 2010).

O processo de cloração deve ser efetuado numa faixa de pH onde predomina o ácido hipocloroso. O íon hipoclorito também possui ação biocida, porém não é tão efetivo (PERES et al, 2008).

7.1.2 Ozônio

O ozônio é uma forma alotrópica do oxigênio, apresenta odor característico, alta volatilidade, baixa solubilidade e alta instabilidade. Por ser pouco estável, a produção de ozônio deve ser no local de utilização. O ozônio é um ótimo oxidante, o que o torna bastante efetivo contra grande parte das bactérias e biofilmes bacterianos em sistemas industriais (VIDELA, 2003).

Pode-se generalizar que concentrações entre 0,01 e 0,05 ppm são suficientes para evitar a formação de biofilmes. Para depósitos biológicos são necessárias concentrações entre 0,2 e 1,0 ppm de O₃ (VIDELA, 2003).

Uma das vantagens do O₃ é sua baixa agressividade à maioria dos metais estruturais (inclusive aço carbono), o que o torna pouco ou não corrosivo. A principal desvantagem é seu custo operacional que inclui energia elétrica e instalações de produção, tornando-o assim pouco competitivo comparado aos biocidas convencionais (PERES et al, 2008).

7.1.3 Peróxido de Hidrogênio

O peróxido de hidrogênio é um dos oxidantes mais versáteis que existe, é superior ao cloro, dióxido de cloro e permanganato de potássio; através de catálise, H₂O₂ pode ser convertido em radical hidroxila (\bullet OH) com reatividade inferior apenas ao flúor (MATTOS et al, 2003).

Os peróxidos são fortes oxidantes, comprovadamente mais eficazes que compostos clorados, não se degradam na presença de matéria orgânica. Apresentam níveis de segurança elevados, pois é um metabólito natural do organismo, é extremamente miscível à água. Possuem grande versatilidade, pois podem ser usados em diferentes formulações e pode-se selecionar sua atividade contra algum microrganismo específico apenas ajustando as condições de reação (pH, temperatura, tempo de reação, catalisador, etc) (PENNA, 2005).

O peróxido de hidrogênio possui grande toxicidade às bactérias e vírus devido à produção de radicais OH⁻ no meio intracelular levando os micro-organismos à morte.

Esses radicais atacam componentes celulares importantes como lipídeos, proteínas e DNA. (PENNA et al, 2001).

O peróxido de hidrogênio, quando em meio aquoso, decompõe-se liberando moléculas de oxigênio e água, o que é uma grande vantagem ambiental do produto (PERES et al, 2008).

7.2 BIOCIDAS NÃO OXIDANTES

Os biocidas não oxidantes são representados por vários produtos químicos diferentes, que apresentam mecanismos de ação característicos e específicos para cada grupo de microrganismos. A avaliação das características do sistema de resfriamento a ser tratado, o material utilizado na construção do sistema e as condições operacionais determinarão qual o produto adequado e qual a dosagem ideal ao sistema (DANTAS, 1988).

Nesta classe de biocidas, os mais utilizados em águas de sistemas de resfriamento são o Glutaraldeído, os Sais quaternários de amônio e as Isotiazolonas (PEREIRA, 2001).

7.2.1 Glutaraldeído

A molécula do glutaraldeído ($C_5H_8O_2$) baseia-se numa cadeia de três átomos de carbono alifáticos com um grupo aldeído em cada extremidade como mostra a figura 10.

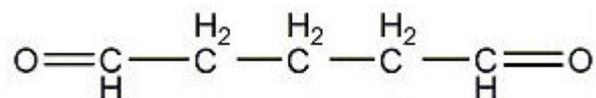


Figura 10 - Molécula do glutaraldeído (In: PEREIRA, 2001).

O mecanismo de ação do glutaraldeído é nos dois grupos terminais de aldeído, pois são quimicamente muito reativos. Os grupos aldeído do glutaraldeído interagem com

certos constituintes de parede e da membrana celular dos microrganismos como os grupos amino e tiol das proteínas (PEREIRA, 2001).

Sua natureza bifuncional permite que cada grupo aldeído reaja com grupos amino diferentes, formando assim uma ponte, ou uma ligação cruzada, entre os dois grupos (BOTT, 1995).

Segundo Pereira (2001), a interação do glutaraldeído com os constituintes celulares é favorecida pelo pH alcalino, sendo assim, o pH é o fator de maior influência na atividade do biocida. Porém, fatores como tempo de contato, concentração e temperatura também influenciam no desempenho do glutaraldeído.

7.2.2 Sais Quaternários de Amônio

A molécula dos sais quaternários de amônio baseia-se em um cátion NR_4^+ , sendo R qualquer radical alquila como mostra a figura 11.

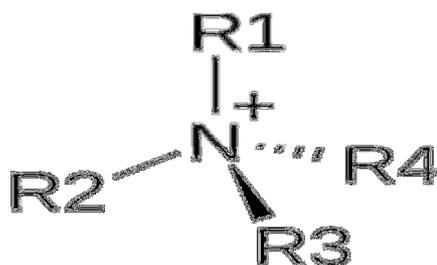


Figura 11 - Estrutura dos sais quaternários de amônio (In: RAUBER, 2013).

Compostos catiônicos que se adsorvem nas superfícies das células dos microrganismos, dessa forma afeta a permeabilidade celular o que causa sua destruição (PERES et al, 2008).

Segundo Dantas (1988), os sais quaternários de amônio possuem ação detergente que causa perda de material celular vital por dissolver lipídios. Suas propriedades detergentes conferem uma proteção adicional contra a formação de polissacarídeos produzidos na colonização microbiana. Em geral, os biocidas formulados com sais quaternários de amônio possuem uma grande variedade de aditivos como hidróxido de potássio, álcoois, água, etc.

Os biocidas de sais quaternários de amônio são incompatíveis com agentes oxidantes fortes como cloro, peróxidos, permanganatos, percloratos e cromatos (VIDELA, 2003).

7.2.3 Isotiazolonas

A molécula das isotiazolonas mais usada como biocida é a 1,2-benzisotiazolin-3-ona mostrada na figura 12.

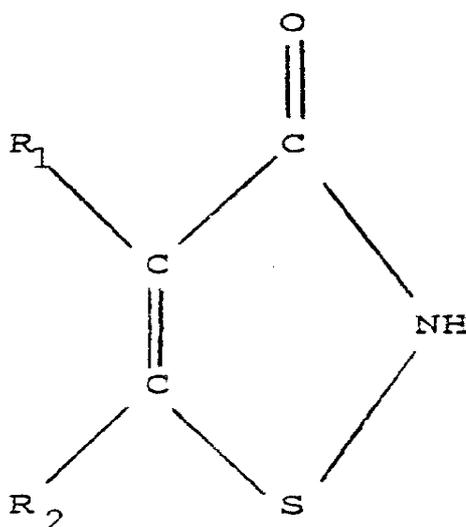


Figura 12 - Estrutura da 1,2-benzisotiazolin-3-ona (In: BACKHOUSE, 2013).

São compostos que tiveram o início de sua utilização no tratamento de águas de resfriamento a pouco tempo e têm sido bem sucedidos com amplo espectro de atuação combatendo fungos, bactérias e algas. As isotiazolinas são compostas por enxofre, nitrogênio e oxigênio, em formulações de biocidas são normalmente cloradas, metiladas e são solúveis na água (TROVATI, 2004).

Seu mecanismo de ação baseia-se no ataque do grupo "tiol" (-SH) presente nas enzimas e proteínas estruturais no citoplasma das células. O pH de ação satisfatória das isotiazolinas esta na faixa de 6,0 a 9,0, e sua principal desvantagem é a desativação de sua ação biocida por formas de enxofre reduzidas (PERES et al. 2008).

8. APLICABILIDADE DO CONCEITO DE BIOCIDA NO ENSINO MÉDIO

Há algum tempo, a literatura indica problemas na formação docente em Química/Ciências, provenientes do modelo de licenciatura vigente nas universidades (ROSA, ROSSI, 2002).

A implantação de uma abordagem interdisciplinar no ensino médio é uma das mais citadas indicações dos documentos oficiais tais como os Parâmetros Curriculares Nacionais (BRASIL, 1999), as Orientações Curriculares para o Ensino Médio (BRASIL, 2006) e as Diretrizes Curriculares Nacionais para o Ensino Médio (BRASIL, 1998) e pode ser considerada uma das formas de superar a fragmentação do conhecimento. Como é um processo que precisa ser vivenciado para ser assimilado, a interdisciplinaridade ganha importância na rotina escolar à medida que os professores começam desenvolver de forma integrada um trabalho pedagógico, que capacita o estudante a se comunicar, argumentar, enfrentar problemas de diferentes naturezas e a elaborar críticas ou propostas de ação em torno de questões da atualidade (FILHO et al, 2013).

A interação mais explorada durante o Ensino Médio é entre a Química e a Física. A valorização da Físico-Química é observada na composição da maioria dos livros didáticos, que dedicam mais de 30% dos seus conteúdos às interações entre a Química e a Física (CORREIA et al, 2003).

A microbiologia é um ramo da ciência dedicada ao estudo dos seres microscópicos, que são pequenos organismos que não podem ser vistos a olho nu. Esta área da ciência aborda a existência de pequenas formas de vida, que podem ser classificadas como bactérias, fungos, protozoários, vírus e algas unicelulares (CASSANTI, et al, 2007).

Os conceitos básicos de microbiologia são de extrema importância para a aprendizagem no ensino médio, pois abrangem vários aspectos relacionados ao dia-

a-dia, como higiene pessoal, funcionamento do meio ambiente, dentre outros. (CASSANTI et al, 2007).

A aplicação dos conceitos de microbiologia para alunos do ensino médio é de grande importância no processo de ensino-aprendizagem, porém na maioria das vezes, é negligenciado pelos professores por terem dificuldades na elaboração e desenvolvimento em estratégias de ensino-aprendizagem devido à falta de recursos financeiros da instituição.

Com o intuito de auxiliar os professores a ensinarem na prática o conceito de biocida na área de microbiologia no ensino médio, um método alternativo foi proposto por este trabalho como ferramenta de ensino.

8.1. EXPERIMENTO: AÇÃO DA ÁGUA SANITÁRIA COMO BIOCIDA.

8.1.1 Objetivo

Mostrar ao aluno que na presença de agentes biocidas os micro-organismos não se proliferam.

8.1.2. Materiais

- Caldo de carne
- Ágar-ágar
- Pinça e/ou palito de churrasco
- Lamparina
- Água sanitária

8.1.3 Procedimento

1) O professor deverá preparar um caldo de carne, acrescentar ágar-ágar e distribuir (ainda quente) em diversos recipientes, fechando-os em seguida. A consistência deverá ser semelhante à da gelatina após o seu resfriamento.

- 2) Levar os recipientes contendo o meio de cultura (caldo de carne com ágar-ágar) e explicar aos alunos como o meio de cultura foi preparado.
- 3) Solicitar que pensem onde gostariam de descobrir a presença de bactérias: mesa do refeitório, lixo, banheiro, em seus próprios sapatos, etc.. Em seguida, um aluno deverá pegar uma pinça, esterilizá-la utilizando a chama de uma lamparina e realizar a coleta. O uso da lamparina é dispensável, podendo-se utilizar qualquer outra forma de se produzir fogo.
- 4) Em seguida, o professor deve entregar ao aluno dois recipientes, o aluno deverá abri-lo , passar a pinça no meio de cultura, e fechá-lo imediatamente. (fazer o mesmo procedimento nos dois recipientes).
- 5) Em um dos recipientes, deve-se adicionar água sanitária suficiente para formar uma fina camada sobre o meio de cultura.
- 6) Depois de colhidos todos os materiais desejados, os recipientes devem ser deixados, por exemplo, no fundo da sala, para que possam ser observados diariamente. Após 15 dias, em média, já será possível perceber colônias formadas nos frascos sem água sanitária e os frascos com água sanitária não haverá formação.

9. MATERIAIS E MÉTODOS

9.1 MATERIAIS

9.1.1. Equipamentos

- Autoclave Phoenix,
- Estufa Tecnal TE 398/2,
- Placas de Petri,
- Tubos de ensaio,
- Ágar Padrão (PCA - Plate Count Agar) Merck,
- Peptona Merck.

9.1.2. Amostras

As amostras foram coletadas na usina de açúcar e álcool da região de Assis, na torre de resfriamento de água do processo.

9.2. METODOLOGIA

9.2.1. Amostragem

Foram coletadas duas (2) amostras no mesmo dia no período noturno.

9.2.2. Preparação

A qualidade microbiológica das amostras foi avaliada através da metodologia de contagem padrão em placas de petri.

Procedeu-se a contagem bacteriana adicionando-se pequenas alíquotas da água a ser analisada em placas de petri e utilizando-se o meio de cultura PCA (Agar Padrão de Contagem).

De acordo com o Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (1998), quando são esperadas concentrações muito altas de microrganismos, deve-se diluir a amostra para a obtenção de valores mais confiáveis. A contagem bacteriana foi realizada através de diluições de amostras líquidas, utilizando solução estéril de água peptonada 0,1%.

O meio de cultura foi preparado de acordo com as instruções do fabricante contidas na embalagem do produto. Para a preparação da água peptonada, adicionou-se 0,4 g de peptona em 400 mL de água destilada, obtendo assim a solução 0,1%. Transferiu-se alíquotas de 10 mL desta solução para tubos de ensaio identificados. As amostras de água de resfriamento foram divididas em 6 erlenmeyers com alíquotas de 100 mL cada. Às amostras foram dosadas concentrações de 6,5, 8,5 e 10,5 ppm de hipoclorito de sódio e peróxido de hidrogênio (figura 13). O tempo total de ação dos biocidas nas amostras foi de 2h e 5h, tempo de contato que simula a duração de um ciclo de resfriamento típico em sistemas industriais. Então transferiu-se alíquotas de 1 mL das amostras de água de resfriamento tratadas para os tubos de ensaio contendo 10 ml de água peptonada, obtendo assim a diluição de 10^{-1} . A partir dessa solução, efetuou-se as demais diluições (10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4}).

Após a diluição das amostras transferiu-se 1 ml de cada diluição para as placas de petri e em seguida adicionou-se às placas de petri o meio de cultura como mostra a figura 14. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica por 48h a 37 °C. Após esse período, procedeu-se a contagem de bactérias em cada placa de petri contando o número de unidades formadoras de colônia. O valor final foi obtido através da multiplicação do número de unidades formadoras de colônias pelo inverso da diluição correspondente.



Figura 13 - Erlenmeyers contendo 100 mL de amostra com as concentrações de biocida já dosadas.

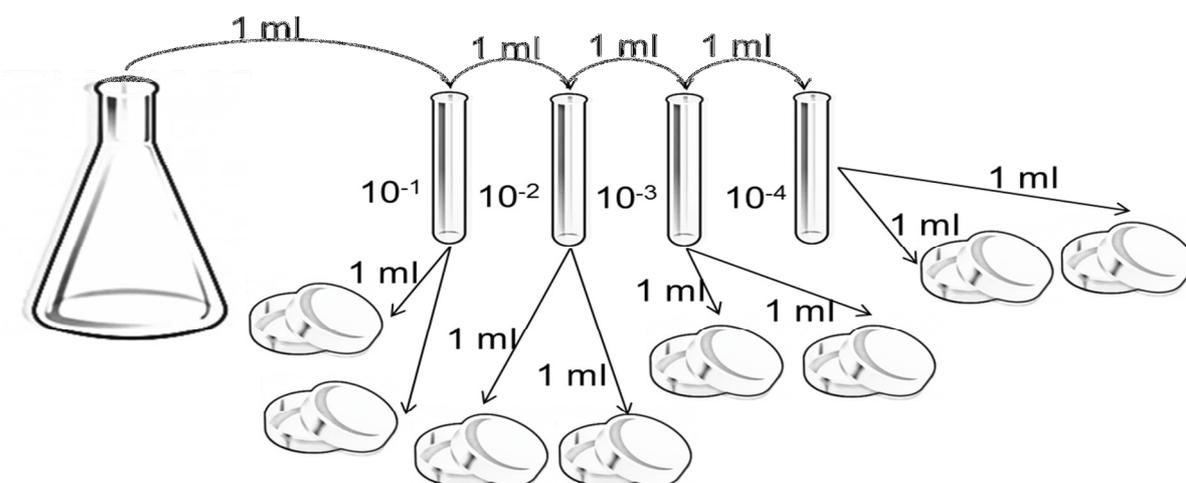


Figura 14 - Esquema de diluição e inoculação das amostras.

10. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Alguns autores e empresas de tratamento de água seguem certos controles de qualidade com o intuito de evitar danos causados pela corrosão, incrustações e crescimento microbiológico, sendo um deles a adoção de um limite de carga microbiana nas águas de resfriamento de $1,0 \times 10^4$ UFC/mL (Unidade Formadora de Colônia), sendo este, um valor adotado pela maioria de autores da área. A técnica utilizada para a contagem das UFC/mL nas indústrias é a mesma que foi utilizada nesta pesquisa, na qual, coloca-se uma amostra de águas do sistema de resfriamento em contato com um meio de cultura não seletivo e calcula-se a quantidade de unidades formadoras de colônia por mililitros da amostra. Os organismos que se proliferam aderidos às superfícies e a flutuação natural de microrganismos em meios líquidos são alguns interferentes na contagem das unidades formadoras de colônias, apesar das técnicas apresentarem esses obstáculos, foi possível obter resultados satisfatórios que demonstram o mecanismo de ação do peróxido de hidrogênio e do cloro quando utilizados como biocidas avaliando sua eficiência em função da concentração e do tempo de contato (PERES et al. 2008).

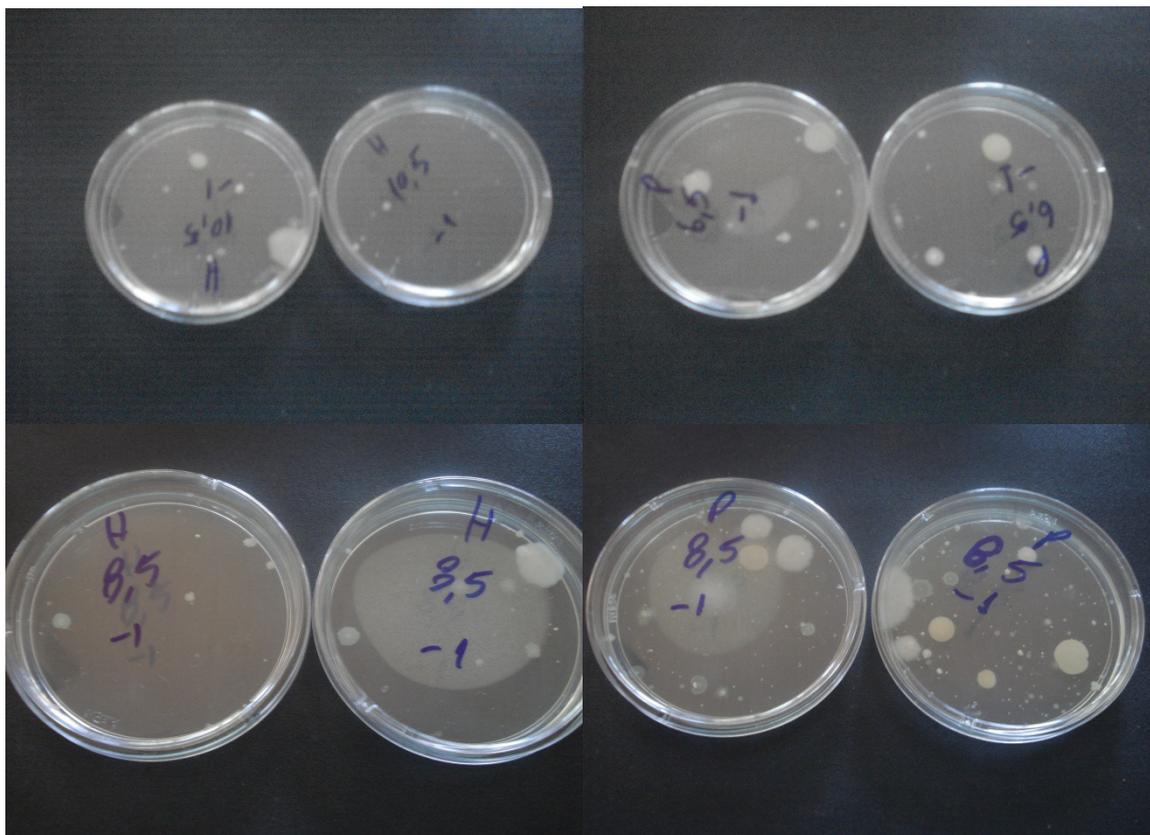


Figura 15 - Placas com as concentrações dos biocidas de 6,5 ppm, 8,5 ppm e 10,5 ppm com tempo de contato de duas (2) horas.

A figura 15 mostra a formação de colônias bacterianas nos dois biocidas onde, P representa o Peróxido de hidrogênio e H representa o Hipoclorito de Sódio. A diluição da amostra é de 10^{-1} e o tempo de contato da amostra com o biocida foi de duas (2) horas. Podemos observar que o Hipoclorito de Sódio (o valor em ppm representa a concentração de Cloro) agiu com maior eficácia que o Peróxido de Hidrogênio.

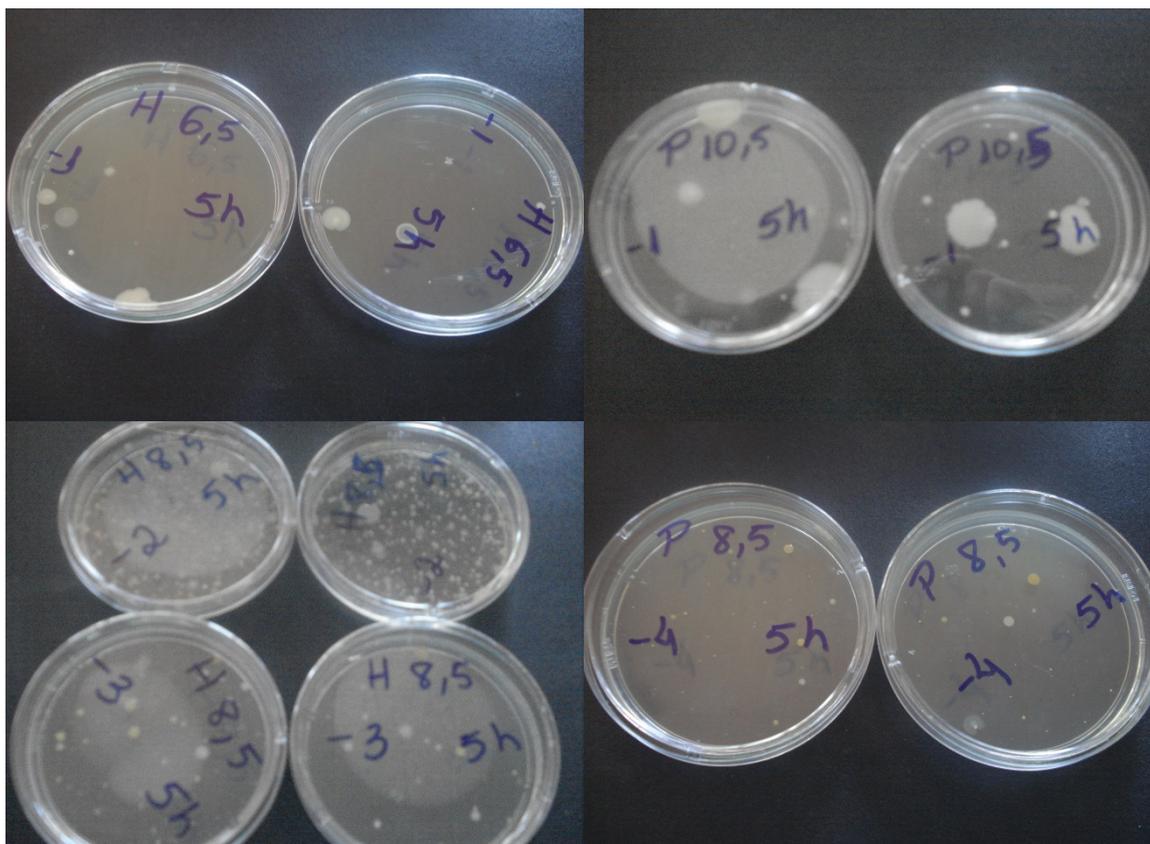


Figura 16 - Placas com as concentrações dos biocidas de 6,5 ppm, 8,5 ppm e 10,5 ppm com tempo de contato de cinco (5) horas.

A figura 16 mostra a formação de colônias bacterianas nos dois biocidas onde, P representa o Peróxido de hidrogênio e H representa o Hipoclorito de Sódio. As diluições da amostra são de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} , o tempo de contato da amostra com o biocida foi de cinco (5) horas. Podemos observar que o Peróxido de Hidrogênio apresentou ação biocida semelhante à do Cloro, com melhor efetividade quando comparada a sua ação em duas (2) horas de contato.

A tabela 3 mostra os resultados obtidos nas análises efetuadas nas amostras de água de resfriamento.

Concentração do Biocida	Amostra sem adição de biocida	Peróxido de Hidrogênio 6,5 ppm	Peróxido de Hidrogênio 8,5 ppm	Peróxido de Hidrogênio 10,5 ppm	Cloro 6,5 ppm	Cloro 8,5 ppm	Cloro 10,5 ppm
Tempo de contato							
2 Horas	$6,5 \times 10^5$ UFC/mL	$5,35 \times 10^2$ UFC/mL	$3,75 \times 10^5$ UFC/mL	$9,9 \times 10^4$ UFC/mL	$1,65 \times 10^5$ UFC/mL	$2,55 \times 10^2$ UFC/mL	$2,2 \times 10^2$ UFC/mL
5 Horas	$1,2 \times 10^6$ UFC/mL	$1,8 \times 10^2$ UFC/mL	$1,56 \times 10^3$ UFC/mL	$2,45 \times 10^2$ UFC/mL	$1,5 \times 10^2$ UFC/mL	$1,02 \times 10^3$ UFC/mL	$2,7 \times 10^3$ UFC/mL

Tabela 3 – Resultados obtidos nas análises através da técnica de contagem padrão de UFC/mL.

Através dos resultados obtidos, nota-se que o Peróxido de Hidrogênio necessita de um tempo maior de contato para que sua aplicação leve a uma redução microbiana satisfatória. O Cloro apresenta grande efetividade em um curto período de contato.

A presença de impurezas na água pode influenciar na ação do Peróxido de Hidrogênio, pois seu mecanismo é sensível à presença de metais. Durante o período da amostra no processo de resfriamento ela esteve em contato com uma tubulação de aço carbono 1020 cuja composição química é mostrada pela tabela 4.

	C	Mn	P	S
Aço 1020	0,18 – 0,23%	0,30 – 0,60%	0,030%	0,050%

Tabela 4 – Composição química do aço carbono 1020 (in GERDAU, 2003).

Os resultados com o Cloro foram satisfatórios, porém esperava-se que a redução microbiana fosse mais efetiva. O Cloro é um oxidante forte e não tem seletividade, ou seja, oxida rapidamente qualquer material com que entra em contato, tornando-o assim muito sensível à presença de matéria orgânica. Como a amostra é de um sistema de resfriamento de produção de açúcar, a possibilidade de conter sacarose na água é grande.

Comparando os dois produtos, devemos considerar que ambos possuem ação biocida distintas em diferentes grupos de microrganismos, para obter resultados mais expressivos deve-se utilizar de outros métodos, como por exemplo, a utilização de um meio seletivo a determinados grupos de bactérias. Este trabalho visava avaliar apenas de forma quantitativa a ação biocida desses produtos.

11. CONCLUSÃO

Os biocidas testados neste trabalho apresentaram ação biocida significativa em águas de sistemas de resfriamento. Em cinco (5) horas de contato, o Peróxido de Hidrogênio apresentou ação semelhante ao Cloro, porém em duas (2) horas de contato o Cloro apresenta uma atividade biocida maior que o Peróxido de Hidrogênio. Isso demonstra que o Peróxido de Hidrogênio necessita de um tempo maior de contato em águas com alta contaminação bacteriana que o Cloro.

Economicamente o Cloro em forma de Hipoclorito de Sódio é mais viável que o Peróxido de Hidrogênio, porém se o Cloro a ser utilizado é em forma gasosa, o Peróxido de Hidrogênio é mais viável como mostra a tabela 5.

Produto	Preço médio de mercado (R\$)
Hipoclorito de sódio 10-12%	4,58 (o litro)
Peróxido de Hidrogênio 50%	8,33 (o litro)
Cloro gasoso	9,20 (o quilo)

Tabela 5 - Comparativo de valores de mercado entre Hipoclorito de Sódio, Peróxido de Hidrogênio e Cloro Gasoso.

Ecologicamente o Peróxido de Hidrogênio supera o Cloro por não gerar subprodutos tóxicos ao meio ambiente. Na presença de matéria orgânica e/ou substâncias húmicas na água, o Cloro reage formando compostos organoclorados e cloraminas, podendo formar outros vários subprodutos como trihalometanos e clorofenóis, considerados tóxicos e potencialmente carcinogênicos. Em meio aquoso o Peróxido de Hidrogênio se decompõe liberando moléculas de oxigênio e água.

REFERÊNCIAS

ÁVILA, José Francisco Godoy de. **5. Operações unitárias**. Curso de Engenharia Química – FAENQUIL – Faculdade de Engenharia Química de Lorena. Disponível em <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAervgAK/5-operacoes-unitarias>>. Acesso em: 26 jul. 2013.

BACKHOUSE, Brian Stuart. **Una composición acuosa básica de isotiazolonas n-insustituídas**. IVENES – Oficina Espanhola de Patentes e Marcas. Disponível em <<http://invenes.oepm.es/InvenesWeb/detalle?referencia=P8600227>>. Acesso em: 15 out. 2013.

BETZDEARBORN. Tratamento de água de resfriamento. In: **Technical paper**, 9ª edição, 1991.

BOFFARDI, Bennett P., Corrosion inhibitor in the water treatment industry, Corrosion: Fundamentals, Testing and protection, vol.13A, **ASM Handbook, ASM International**, 2001, p 891-906.

BOTT, T. R., **Fouling of heat exchanger**, Elseiver Science B.V., Amsterdam, Holanda, 1995.

BRASIL, Ministério da Educação. Conselho Nacional de Educação. **Diretrizes Curriculares Nacionais para o Ensino Médio**. Brasília, 1998.

BRASIL, Ministério da Educação. **Orientações Curriculares para o Ensino Médio**. Brasília: MEC; SEB, 2006.

BRASIL, ministério da Educação. Secretaria da Educação Média e Tecnológica – Semtec, **PCN Ensino Médio**. Brasília: MEC; Semtec, 1999.

CASSANTI, Ana Claudia; CASSANTI, Ana Carla; ARAUJO, Eliana Ermel; URSI, Suzana. **Microbiologia democrática: estratégias de ensino aprendizagem e**

formação de professores. Oficina: Microbiologia e Democracia. Departamento de Ciências da Natureza. Colégio Dante Alighieri. 2007. 27 p.

CHELOSSI, Elisabetta; FAIMALI, Marco; Comparative assessment of antimicrobial efficacy of new potential biocides for treatment of cooling and ballast waters. **Science Total Environment.**, vol. 01, nº. 356, 2006, p1-10.

CORREIA, Paulo R.M.; DAZZANI, Melissa; MARCONDES, Maria Eunice R.; TORRES, Bayardo B. A Bioquímica como Ferramenta Interdisciplinar: Vencendo o Desafio da Integração de Conteúdos no Ensino Médio. **Química Nova na Escola**, nº 19, 2004, p. 19 - 23.

DANTAS, Evandro Vieira; **Tratamento de Água de Refrigeração e Caldeiras**, 1ª ed., Ed. Ecolab: Rio de Janeiro, 1988.

DREESZEN, Paula H. Biofilme: A chave para compreender e controlar o crescimento bacteriale em Sistemas de Água Potável Automatizados. **Biofilme - Edstrom**, 2ª ed. 2003.

FILHO, João Rufino de Freitas; ALMEIDA, Maria Angela Vasconcelos de; PINA, Maria do Socorro Lopes; FILHO, Afonso Feitosa Reis; OLIVEIRA, Minancy Gomes de; ARRUDA, Avany Martins. DANTAS, Valter de Assis; SOUZA, Marcus Venícius Juliano de. Relato de uma Experiência Pedagógica interdisciplinar: Experimentação Usando como Contexto o Rio Capibaribe. **Química Nova na Escola**, vol 35, nº 1, 2013 p. 1-8.

GERDAU, Aços Finos Piratini; **Manual de Aços**, Boletim informativo, 2003.

MACÊDO, Jorge Antônio Barros de; **Águas e águas**, 2ª. Ed. Minas gerais: CRQ MG, 2004.

MACHADO, Silvia Maria De Oliveira. **Avaliação do efeito antimicrobiano do surfactante cloreto de benzalcônio no controle da formação de biofilmes indesejáveis.** 2005. 114p. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Engenharia Biológica - Universidade do Minho, Braga - Portugal.

MANCUSO, Pedro Caetano Sanches; MANFREDINE, Belinda de Cassia. Reuso De Água Em Sistema De Resfriamento. In: **Estudo De Caso**. Subestação Conversora De Energia Furnas Centrais Elétricas. 2003, 21p.

MATTOS, Ivanildo Luiz de; SHIRAISHI, Karina Antonelli; BRAZ, Alexandre Delphini; FERNADES, João Roberto Fernandes, Peróxido de Hidrogênio: Importância e Determinação. **Química Nova**, vol. 26, nº 3, 2003, p. 373-380.

MELO, L. F.; BOTT, T. R. Biofouling in water systems. **Experimental Thermal and Fluid Science**, 1997, vol. 14.

NALCO. **Guide to cooling Water System Failure Analysis**, 1ª edição, 1979.

PEREIRA, Maria Olivia Baptista de Oliveira. **Comparação da eficácia de dois biocidas (carbamato e glutaraldeído) em sistemas de biofilme**. Dissertação (Doutorado) – Departamento de Engenharia Biológica – Universidade do Minho, Braga – Portugal.

PERES, Fernando Antonio Serrapio; TEIXEIRA, Luiz Alberto Cesar; YOKOYAMA, Lídia; CAMPOS, Juacyara Carbonelli; MIGUEL, Marco Antônio Lemos; Tratamento de águas de refrigeração com peróxido de hidrogênio. **Química Nova**, Vol. 31, 2008, p1851-1855.

PENNA, Thereza Christina Vessoni. **Biossegurança Aplicada a Laboratórios e Serviços de Saúde**. 2ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

PENNA, Thereza Christina Vessoni; MAZZOLA, Priscila Gava; MARTINS, Alzira Maria Silva; The Efficacy Of Chemical Agents In Cleaning And Desinfection Programs. **Bmc Infectious Diseases**, 2001, Vol 16, p. 7-8.

RAUBER, Eduardo. **Compostos Orgânicos com Nitrogenio II**. Curso de Farmácia – UFSM - Universidade Federal de Santa Maria. Disponível em: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAA AJ6QAK/compostos-organicos-com-nitrogenio-ii#>>. Acesso em 15 out. 2013.

ROSA, Maria inês de Freitas Petrucci Santos; ROSSI, Adriana Vitorino. Mediação Interdisciplinar na construção de um Projeto de Ensino de Química: Uma Análise Pautada no Diálogo de Diferentes Saberes. **Química Nova na Escola**, nº 16, 2002 p. 36–40.

SANTOS, João Luis dos. **Uso e manejo da cloração de água na atividade pecuária.** Comunidade de negócios internacionais relacionados à produção animal – ERGOMIX. Disponível em: <<http://pt.engormix.com/MA-avicultura/administracao/artigos/cloracao-de-agua-na-atividade-pecuaria-t307/124-p0.htm>>. Acesso em 25 mar. 2012

SEATECH-BR. **Corrosão e proteção catódica.** Disponível em <<http://www.seatech-br.com/informacao1.htm>>. Acesso em 31 mai. 2012.

SOUZA, Eduardo Alencar de. **Avaliação de inibidores de corrosão para sistemas de resfriamento industrial operando com ciclo elevado de concentração.** Dissertação (Mestrado) – Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – Brasil.

TACHIKAWA, Mariko; TEZUKA, Masakatsu.; MORITA, Mashiro; ISOGAI, Katsuhisa; OKADA, Shoji; Evaluation of some halogen biocides using a microbial biofilm system. **Water Research.** 2005, no 39, p. 4126 - 4132.

TANJI, Yasunori; NISHIHARA, Takaaki; MIYANAGA, Kazuhiko; Monitoring of biofilm in cooling water system by measuring lactic acid consumption rate. **Biochemical Engineering Journal.** 2007, vol 35, p. 81- 86.

TELANG, Anita J.;EBERT, Sara; FOGHT, Julia M.; WESTLAKE, Donald W.S.; VOORDOUW, Gerrit; Effects of two Diamine Biocides on the Microbial community from an Oil Field. **Canadian Journal of Microbiology.** 1998, vol.44, p.1060-1065.

TROVATI, Joubert; Tratamento de Águas Industriais: Sistemas de Resfriamento. In: **Relatório Técnico.** Industrias Corona, São Paulo, 2004, 89p.

VIDELA Héctor A.; **Biocorrosão, Biofouling e Biodeterioração de Materiais.** 1ª ed. São Paulo: Editora - Edgard Blücher, 2003.