

300627
25



UNIVERSIDAD LA SALLE

Escuela de Ciencias Químicas

Incorporada a la U. N. A. M.

25

"Aislamiento e identificación de bacterias
sulfoferrosas en aguas de uso industrial
en el área metropolitana de la Ciudad
de México y Refinerías"

TESIS PROFESIONAL
Para Obtener el Título de
QUIMICA FARMACEUTIC-BIOLOGA
P r e s e n t a
Silvia Consuelo Jurado González

Asesor: Q.F.B. Martha Angélica Mustre de León

México, D. F.

1995

FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Gracias Dios

Gracias, Señor, por haberme quitado todo lo que me sobraba para caminar hacia ti

Gracias, Señor, por aquel enemigo que me hizo tanto mal, por que por el aprendí a perdonar.

Gracias por las enfermedades que me hicieron paciente, fuerte y humilde al reconocer mis límites, cualidades, defectos y virtudes.

Gracias por los errores que hicieron mi experiencia

Gracias por las piedras que me hicieron dar un paso más largo

Gracias por las decepciones que me hicieron no descansar hasta encontrarte

Gracias por mis planes frustrados que me llevaron al descubrimiento del proyecto de vida que tenías para mí

Gracias por las quiebras y despojos, por las pérdidas y las carencias, por que me hicieron libre para anhelar los bienes superiores que perduran.

Gracias por el dolor y el sufrimiento que me purificaron y me dieron temple, y me enseñaron para siempre que la felicidad no consiste en no sufrir, sino en aprender a sufrir por aquello que amamos.

A mí papá.

Gracias por tu esfuerzo y tu vida, por que me han dado armas para transitar en este mundo.

Y sobre todo por ese gran esfuerzo, por que sin él no hubiera logrado ser alguien en este mundo .

A mí mamá.

Gracias por tus grandes ayudas, palabras y consejos que siempre me estas brindado por que son para mí, muy utiles y valiosos...gracias por creer en mí.

A mis hermanos Raúl y Elvia.

Raúl gracias por tu gran ayuda

A Elvia, por que un día tuvo que partir y por que fue de ella de quién aprendí que el dar alegría a los demás es saber vivir minuto a minuto la vida.

A mí tía Senorina

Gracias por el apoyo que me das momento a momento .

A mis profesores

Gracias por esos pequeños consejos, enseñanza, amistad e interés que pusieron en mí para llegar a mi formación profesional. En especial:

I.Q Gerardo Mujica Z.

Q.F.B. Enrique Calderón

Q.B.P. Guadalupe Morales

Q.F.B. Guadalupe Solís Ch.

I.B.Q María Eugenia Martínez S.

I.Q Adolfo Obaya

Q.F.B. Ma. Leticia Linares

Q. Gabriel Hernández A

A mí profesora Q.F.B. Martha A. Mustre de León

Gracias Martha por haberme dado una mano en todo momento, por enseñarme un poco de tus conocimientos, y por la gran ayuda que me diste hasta el final.

A la Q.F.B María de Jesús Palomares

Gracias por los grandes favores y facilidades que nos proporcionaste. Y sobre todo tu comprensión y apoyo.

A mí profesor Q.F.B. José Antonio García.

A ti en especial quisiera darte las gracias por los consejos que me diste, por que por ellos pude dar pasos firmes sin dudar.

A mis amigos.

Por su ayuda, apoyo y consejos.

Oscar Jaime Flores

Gustavo A. Jiménez García

José Luis Ortega

Guadalupe Vértiz S.

Laura Meléndez A

Veronica Vega

Patricia Valdez

A Clara Angélica Reyes Ramírez

Gracias por todo.

Abreviaturas

ppm = partes por millón.

N = Normalidad

M= Molaridad

ml = Mililitros

gr = gramos

lb = libras

min. = minutos

mg = miligramos

u = Unidades

rpm = revoluciones por minuto

Índice general

Capítulo 1	Objetivos	2
Capítulo 2	El agua y la corrosión	
2.1	Clasificación de la corrosión.....	6
2.2	Técnicas de control de la corrosión.....	7
2.3	Clasificación según el medio.....	7
Capítulo 3	Generalidades	
3.1	Corrosión microbiana.....	10
3.2	Clasificación de bacterias corrosivas.....	14
3.3	Bacterias del hierro.....	15
3.4	Bacterias del azufre	17
3.5	Bacterias sulfato-reductoras.....	20
3.6	Importancias del <i>Desulfovibrio desulfuricans</i> y <i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	24
3.6.1	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	24
3.6.2	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	27
3.7	Medios de cultivo.....	30
3.7.1	Medios para ferrobacterias.....	31
3.7.2	Medios para BSR.....	34
3.7.3	Medios para sulfobacterias.....	36
3.8	Fenómenos, factores y mecanismos de la corrosión.....	38
3.8.1	Fenómenos de la corrosión microbiana.....	38
3.8.2	Factores que influyen en la corrosión microbiana.....	38
3.8.3	Mecanismos de la corrosión microbiana.....	38
Capítulo 4	Métodos, material y reactivos	
4.1	Cepas.....	42
4.1.1	Equipo.....	42
4.1.2	Material.....	42
4.1.3	Reactivos.....	43
4.2	Soluciones y reactivos.....	43
4.3	Metodología.....	45
4.4	Toma de muestras.....	45
4.4.1	Tamaño de muestras	45
4.5	Procedimiento para la inoculación de medios.....	48
4.5.1	Método de inoculación para bacterias aerobias.....	48
4.5.2	Método de inoculación para bacterias anaerobias.....	48

4.6	Identificación de bacterias.....	49
4.6.1	Identificación de sulfobacterias.....	49
4.6.2	Identificación de BSR.....	49
4.7	Técnicas de estudio.....	49
4.7.1	Preparación de láminas.....	50
4.7.2	Preparación de láminas para sulfobacterias.....	56
4.7.3	Preparación de láminas para BSR.....	50
4.8	Técnicas para pruebas fisicoquímicas.....	51
4.8.1	Dureza total.....	51
4.8.2	Alcalinidad total y a la fenolftaleína.....	51
4.8.3	Carbonatos y bicarbonatos.....	52
4.8.4	Calcio.....	53
4.8.5	Hidróxilos.....	53
Capítulo 5	Resultados y análisis de resultados	
5	Resultados.....	55
5.1	Análisis de resultados.....	60
5.1.1	Alcalinidad a la fenolftaleína (A/F).....	67
5.1.2	Alcalinidad total (A/T).....	68
5.1.3	Hidróxilos (OH).....	71
5.1.4	Carbonatos (CO ₃).....	76
5.1.5	Bicarbonatos (HCO ₃).....	69
5.1.6	Dureza total (D/T).....	70
5.1.7	pH.....	75
5.1.8	Calcio (Ca).....	72
5.1.9	pH 9K.....	73
5.2.0	pH C.....	74
Capítulo 6	Conclusiones	
6.	Conclusiones y sugerencias.....	76
Bibliografía		

Capítulo 1

Objetivos

OBJETIVOS

* Aislar bacterias sulfoferrosas de sus fuentes acuáticas naturales y determinar por medio de análisis fisicoquímicos en que tipo de agua se desarrollan estas bacterias.

* Comparar diferentes medios de cultivo y enriquecimiento que se han propuesto para estos fines.

Capítulo 2

El agua
y
la corrosión

El agua y la corrosión

Se puede decir que todo tipo de industria necesita agua para sus procesos, con excepciones muy contadas, por ejemplo el proceso de deshidratación y aún en este caso se requiere de agua potable para la limpieza. El 98% aproximadamente la necesitan en cantidades superiores a la cantidad del producto que elaboran (14).

Dentro de los procesos industriales, el agua tiene usos muy variados, como pueden ser, entre otros, los siguientes (14, 32):

- Agua de alimentación a calderas.- Se utiliza para baños, calentamiento de equipos de proceso, entre otros.

- Agua de enfriamiento.- Se utiliza para eliminar el calor generado en todos aquellos procesos exotérmicos.

- Agua de proceso.- Tiene uso en producción de cosméticos, fármacos, en preparación de soluciones o reactivos, etc.

- Agua para servicios generales.- Se refiere al agua para : baños y consumo humano, lavado de equipos de proceso, lavado de pisos, etc (14).

Cabe hacer notar que algunas clases de industrias utilizan el agua en todos los procesos anteriormente enlistados, mientras que en otras clases únicamente se utiliza el agua en ciertos procesos (14).

Para algunos casos debe ser tal la calidad del agua, que es necesario eliminar completamente todas las impurezas, en cambio en otros casos no se requiere de estos pasos, ya que esto resultaría antieconómico.

Al hablar de impurezas del agua se ha visto que éstas son causa de problemas en los equipos de evaporación, calentamiento, enfriamiento, etc... ocasionando incrustaciones o corrosiones, que a su vez originan pérdidas de eficiencia y fallas en los equipos con los consiguientes paros costosos al tener que efectuar cambios de piezas, limpieza o reparaciones, y en algunos casos las consecuencias pueden ser fatales para el personal que opera los equipos (51).

Enseguida se mencionarán algunas de las características comunes en las aguas de uso industrial, que causan dificultades según en el proceso en el que se utilice. La eliminación de estas se realizan mediante métodos químicos y mecánicos (78, 51).

Turbiedad.- Imparte apariencia desagradable al agua. Forma depósitos en calderas, equipos de proceso, etc... Causa interferencias en la mayoría de los procesos (51).

Color.- Es producido por la presencia de hierro, calcio, etc. Causa espuma en las calderas (51).

La turbiedad y el color se dan debido a la cantidad de materia orgánica como son los tensoactivos y a la cantidad de sales solubles disueltas en el agua como son manganoso, calcio, carbonatos, entre otros.

Dureza.- Constituida por las sales de calcio y magnesio, es la principal causa de incrustaciones en equipos de intercambio de calor, calderas, líneas de alimentación, etc (51).

Alcalinidad.- Debida a la presencia de bicarbonatos, carbonatos e hidróxidos, contribuye a la formación de espumas en aguas de calderas. Causa fragilización en el metal. Los carbonatos y bicarbonatos producen gas carbónico (CO_2) (51).

Acidez mineral.- Producida por los ácidos sulfúrico, clorhídrico y nítrico, es causa de corrosión (51).

Hierro.- Causa depósitos en líneas de agua y en calderas (51).

Sólidos disueltos.- Es la medida de la cantidad total de materia disuelta. Una alta concentración de sólidos es perjudicial debido a que producen espuma en agua de calderas (51).

De manera que la presencia de impurezas junto con bacterias, hongos y algas originan lo que se conoce como corrosión.

Históricamente con el uso extensivo de los metales a partir de la "Revolución Industrial", aparecen los problemas de la corrosión que dan lugar en algunos casos a situaciones catastróficas como el derrumbe de puentes, explosiones en fábricas y centrales generadoras de electricidad, poniendo en peligro vidas humanas. En muchos otros casos, aunque no con consecuencias funestas, interrumpen la actividad industrial llevando aparejadas pérdidas de producción y por ende económicas (78, 14, 25, 4).

La corrosión ha sido definida de muchas maneras:

1.- Es un fenómeno electroquímico provocado por el medio ambiente, ya sea natural o artificial. Tiene un impacto sobre los ecosistemas dado que, por ejemplo, una falla debida a la corrosión puede provocar fugas de contaminantes al ambiente (13, 25, 44).

2.- La degradación de un metal por su combinación con un elemento no metálico, tal como el oxígeno y el azufre. Esto significa el regreso del metal a la forma

en que existió: como un mineral con la completa pérdida de sus propiedades metálicas. Los minerales más abundantes son los óxidos, los sulfuros y los carbonatos, de tal forma que mucha energía debe ser consumida para convertir estos minerales en metal. La corrosión es un proceso inverso. No requiere de ese suministro de energía, de modo que la formación de sulfuro, óxido o carbonato ocurre espontáneamente (13, 4).

3.- En un sentido más amplio, es la degradación de los materiales para adoptar estados más estables en la naturaleza. Esto, sucede por ejemplo, piedras calizas expuestas a lluvia ácida por contaminación presente en la atmósfera, y metales en solución acuosa como los aceros expuestos a combustibles que contienen impurezas de azufre, etc (13, 25).

La importancia del estudio de la corrosión es doble. El primero es económico incluyendo pérdida de la reducción de materiales resultando de la destrucción no prevenida en fallas de tuberías, tanques, componentes metálicos de máquinas, etc. El segundo es la conservación, aplicado primordialmente en los recursos metálicos (8, 20).

Como ya se menciona las pérdidas pueden ser económicas, sociales, y en muchos casos humanas. El reciente accidente de Guadalajara (1993) y el derrumbe de algunos edificios durante los temblores de 1985 en la Ciudad de México, bastan como ejemplos para ilustrar la anterior aseveración (25, 44, 50).

Se ha calculado que los costos por corrosión son del orden del 3 al 6 % del producto nacional bruto del país. Esto habla de ineficiencias, desperdicios, y fallas del mantenimiento en las plantas y procesos que se traducen en aumentos a los costos de los bienes y servicios que se producen, siendo con esto menos competitivos. De estos costos el 40% pueden ser evitados con la tecnología disponible en la actualidad (25, 4).

Para su estudio los procesos de corrosión pueden ser clasificados, como sigue (20):

2.1 Clasificación de la corrosión.

Según el medio	{	Corrosión química Corrosión electroquímica Corrosión microbiana
Según la forma	{	Ataque uniforme o general Corrosión galvánica o de dos metales Corrosión en huecos Corrosión filiforme Picadura Corrosión intergranular Corrosión selectiva Erosión-corrosión Corrosión por esfuerzo

El estudio de la corrosión según el medio es útil cuando se estudian los mecanismos de ataque; sin embargo, si se quieren evaluar los daños producidos por la corrosión, resulta muy conveniente la clasificación según la forma. (20)

Debido a nuestro objetivo de estudio solo se hará una explicación breve de la corrosión microbiana, y en el capítulo siguiente se explicará con más detalle este tipo de corrosión.

2.2 Las técnicas de control de la corrosión se basan en dos principios (49):

- 1) Alteración del material mediante el desarrollo y sustitución de éste por materiales mejores y más resistentes a la corrosión.
- 2) La alteración del medio através del uso químico o inhibidores de la corrosión.

Algunos inhibidores de la corrosión son: Cromatos, fosfatos, zinc, silicato de sodio, nitritos, borax, y orgánicos como el aldehído fórmico entre otros (72, 10, 5).

Desde el punto de vista ingenieril todos los problemas de corrosión, aunque no plenamente bien entendidos, se pueden controlar aplicando una o varias de las técnicas de las ya mencionadas (72, 10, 5).

2.3 Clasificación según el medio.

Corrosión microbiana.- Fenómeno de destrucción provocado por microorganismos (bacterias, algas y hongos), ya sea que actúen en forma directa o por medio de sustancias provenientes de su metabolismo, desempeñando un papel importante al acelerar el proceso de corrosión, o al crear las condiciones favorables para producir dicho fenómeno (17, 15).

Desde el punto de vista microbiológico, se puede atacar el problema desde dos aspectos fundamentales (13, 5):

- 1) Destruyendo o inhibiendo el crecimiento o la actividad metabólica de los microorganismos añadiendo sustancias bactericidas o bacteriostáticas al medio (25, 34, 50).
- 2) Modificando las características del medio donde se desarrollan los microorganismos (aireación, cambio de pH) (25, 34).

Para evitar la presencia de estas bacterias, se han recomendado el uso de detergentes cuaternarios, ya que son de bastante uso y baratos. De igual manera sucede con el uso de cromatos, que resultan ser muy efectivos (49).

Como en todo proceso electroquímico, la corrosión involucra, por lo menos dos reacciones químicas: Una de oxidación (pérdida de electrones) y una reducción (ganancia de electrones). En el caso más conocido, que es la formación de herrumbre, el hierro se oxida mientras que el oxígeno del aire se reduce. La humedad presente en la atmósfera sirve como solución electrolítica para favorecer el proceso (32, 5).

2.3 Las técnicas de control de la corrosión se basan en dos principios (49):

1) Alteración del material mediante el desarrollo y sustitución de éste por materiales mejores y más resistentes a la corrosión.

2) La alteración del medio através del uso químico o inhibidores de la corrosión.

Algunos inhibidores de la corrosión son: Cromatos, fosfatos, zinc, silicato de sodio, nitritos, borax, y orgánicos como el aldehído fórmico entre otros (72, 10, 5).

Desde el punto de vista ingenieril todos los problemas de corrosión, aunque no plenamente bien entendidos, se pueden controlar aplicando una o varias de las técnicas de las ya mencionadas (72, 10, 5).

Capítulo 3

Generalidades

3.1 Corrosión microbiana

La corrosión microbiana es un tema de gran interés, pues analizado como un factor económico adquiere carácter de gran importancia, debido a la complejidad que involucra su estudio (5, 32, 52).

El campo de la corrosión microbiana ha sido explorado relativamente poco y en la actualidad hay pocas personas en el mundo que efectúan investigación activa en esta área (5, 32)

Así muchos académicos del ramo no conocen mucho sobre los microorganismos corrosivos; y a pesar de sus cualidades y características tan especiales, han sido de alguna manera alejadas de los campos de investigación microbiológica. En México su investigación ha sido extremadamente limitada (65, 52).

Si se fija la atención en un sistema formado por un metal de aleación que constituye en sí un sistema complejo, en contacto con medio rico en vida microbiana, se encontrarán grandes problemas para explicar muchos de los fenómenos que ahí se están produciendo. Aun más, si se reduce el estudio a uno de los microorganismos que actúan en dicho medio, la situación aparece todavía extremadamente complicada. Esta es la razón por la cual no se ha logrado esclarecer muchas de las interrogantes acerca de la corrosión microbiana, muchos otros aspectos de este tema se mantienen sin respuestas (13, 78, 14).

Muchas formaciones petroleras subterráneas contienen estos microorganismos, posiblemente como resultado de las operaciones de campo previas a la extracción del petróleo. Durante la perforación de pozos puede penetrar fango contaminado con los microorganismos y provocar la inoculación de las formaciones presentes en el yacimiento (13, 78, 8, 34).

Cuando el entubado de retención está instalado y el pozo está terminado, las áreas o zonas externas de la tubería estarán en contacto con los microorganismos y si el medio de las formaciones de producción es favorable, se establecerán ahí. Cada área externa de la tubería está expuesta al crecimiento de microorganismos y por lo tanto es susceptible de dañarse como resultado de una corrosión ocasionada por la actividad de estos microorganismos. Además de otras bacterias y otros seres microscópicos que pueden migrar al borde del pozo e infiltrarse completamente donde obstruyen parte del agua de inyección y entonces representa un riesgo para cualquier operación en la cual se utiliza el agua (13, 25, 33).

Otra ruta por la cual entran los microorganismos a los sistemas de inyección de agua es en el caso en el que se utilice la del mismo yacimiento contaminado. Algunas

veces esta puede estar libre aparentemente de contaminación microbiana, siendo que estos microorganismos se establecen en los tanques de almacenamiento y pueden eventualmente entrar en el sistema de inyección (19, 3, 74).

También la contaminación microbiana daña gran parte del equipo industrial; además se han encontrado en oleoductos, tanques de almacenamiento, filtros, columnas de enfriamiento y en general en el equipo que está en contacto con los suelos pantanosos, salmueras de aceites, agua de mar, agua dulce, perforación de producción de petróleo, etc. (61, 55, 50, 15).

También en tubos de acero en sistemas de aguas, tuberías con cubierta epóxica, tuberías galvanizadas de aguas calientes, suelen ser corroídos por dichas bacterias (61, 62).

Por otro lado causan la contaminación natural de las aguas por producción de ácido sulfhídrico, que ha llegado a matar grandes cantidades de peces y organismos acuáticos. (78, 25, 3, 40).

Son responsables de la corrosión de monumentos, estatuas y construcciones de civilizaciones prehispánicas, así como de edificios de piedra; sobre todo por la interacción de bacterias aerobias y anaerobias en la producción del corrosivo ácido sulfhídrico y la extraordinaria adaptabilidad y resistencia de dichas bacterias (4, 8).

Así se observa que el problema de la corrosión microbiana es un factor que se debe tomar en cuenta en la industria, ya que su presencia implica un aumento en los costos de mantenimiento y una pérdida en el equipo (3, 74).

Por el contrario muchos de los depósitos minerales de la Tierra han sido formados con la ayuda de estas bacterias. Por ejemplo: Depósitos de azufre elemental (51, 32, 19, 61).

De entre los miles de microorganismos, solo unos cuantos han sido considerados como agentes biológicos corrosivos, incluyendo hongos y algas. Muchos de los microorganismos se encuentran asociados con las sulfatorreductoras y aparentemente proporcionan el medio anaerobio necesario para estas bacterias. Otros microorganismos como las "bacterias del hierro" que oxidan compuestos del hierro, se les acredita como un problema, aunque de menor grado (13). Para su estudio se han clasificado en dos grupos:

- 1.- Aerobias (Ferrobacterias y sulfobacterias)
- 2.- Anaerobias (Sulfato Reductoras)

El primer grupo de estas bacterias que son las aerobias, obtienen su energía de la oxidación del azufre elemental, tiosulfatos y en algunos casos de politionatos, sulfuros y sulfitos. El producto final de su oxidación es el ácido sulfúrico. Estas bacterias pueden crecer en medios de cultivo con un pH de 0.7 (25, 55, 15).

El segundo grupo de estas bacterias es estrictamente anaerobio. Frecuentemente son encontradas en un medio aparentemente rico en oxígeno, pero generalmente asociados con otros microorganismos aeróbicos, los cuales utilizan el oxígeno proporcionando por lo tanto un medio anaerobio. Estas bacterias anaeróbicas pueden reducir compuestos oxigenados de azufre, como sulfatos, para producir sulfuros. Por ejemplo, los microorganismos sulfato-reductores anaeróbicos son de dos tipos: Uno que produce esporas y otro que no las produce. El primer grupo está formado por el *Desulfatamaculum* y el segundo grupo es el miembro del género *Desulfovibrio*, que es una bacteria sulfato reductora, familiar para la gente que trabaja en el campo de la corrosión. En el cuadro 1 se muestra la clasificación de las bacterias corrosivas (13, 78, 9).

Por otro lado los hongos pueden causar importantes daños debido a su actividad enzimática. Los hongos secretan numerosos ácidos orgánicos en el medio. Por ejemplo el *Cladosporium resinas*, que es el principal organismo responsable de la corrosión del aluminio integral en los tanques de los combustibles de los aviones. Debido a este hongo se han registrado accidentes de aviación por picaduras de sus tanques de combustible (25, 34, 15).

Las algas son organismos que proporcionan la materia orgánica para el crecimiento de otros microorganismos. Como en el caso de los hongos, también las algas secretan enzimas que atacan numerosos sustratos: madera, metal, papel, etc., y que pueden así mismo metabolizar sustancias ácidas corrosivas (61, 63).

Las bacterias del hierro y del azufre se estudian debido a la importancia de estos elementos y sus transformaciones en el tratamiento de aguas y en los sistemas de distribución, resultando especialmente molestas en aguas de uso industrial, como las destinadas al enfriamiento y ebullición (15).

Por lo tanto, las bacterias sulfatoferrosas, son bacterias importantes desde el punto de vista económico, tiempo de proceso, ecológico, industrial, metalúrgico y por su puesto académico, ya que fisiológicamente y bioquímicamente son muy diferentes a las bacterias comunes (51, 8).

Las bacterias sulfoferrosas, también llamadas colectivamente bacterias del hierro y del azufre, no es homogéneo desde el punto de vista morfológico o fisiológico, pero pueden caracterizarse por su capacidad de transformar o depositar cantidades significativas del hierro o azufre, y obtener energía aprovechable con ello (15, 40, 62).

Estas bacterias se encuentran tan ampliamente distribuidas, que resulta asombrosa su capacidad de sobrevivir en ambientes hostiles para ella, y regenerarse en cuanto las condiciones así se les permitan. Incluso se cree que de cualquier muestra de agua o suelo pueden aislarse algunas de estas bacterias (61, 63).

Las bacterias del hierro, pueden provocar suciedad y cegamiento de los pozos y sistemas de distribución; y las reductoras de los sulfatos pueden dar lugar a aguas herrumbrosas o tuberculaciones de las conducciones. Además pueden provocar malos olores, sabores, espumas, coloraciones y aumentos en la turbidez del agua (73, 62).

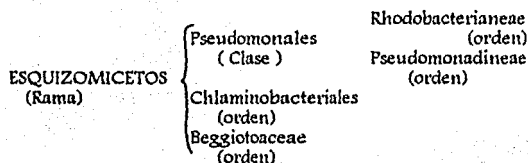
De este grupo de extraordinarias bacterias dependen gran parte de las fuentes de azufre reducido, indispensable para la síntesis de proteínas y diversos materiales biológicos ya que en la naturaleza el azufre se encuentran en forma de sulfatos y de óxidos de azufre, formas que la mayoría de los organismos del planeta no pueden aprovechar (61, 63).

El *Thiobacillus ferrooxidans* y el *Ferrobacillus ferrooxidans*, contribuyen al problema del drenaje ácido de las minas, en la recuperación de minerales, de metales pesados, o bién en la limpieza de los mismos (45, 28, 69).

La microflora de las aguas es afectada por la basura y esto ocasiona que haya nutrientes orgánicos e inorgánicos en el medio, lo cual ocasiona la producción de bacterias y hongos (33).

Con todo lo mencionado anteriormente, se vislumbra que las bacterias sulfatoferrosas son necesarias, e incluso como parte del delicado equilibrio ecológico que permite a la Tierra ser hogar de la diversidad biológica que le caracteriza, pero que sin embargo, una excesiva proliferación es causante de severos problemas, tanto en lagos, ríos, muelles y canales, así como en las tuberías industriales (15).

3.2 Clasificación de bacterias corrosivas



<u>ORDEN</u>	<u>FAMILIA</u>	<u>TIPO DE BACTERIA CORROSIVA</u>
Rhodobacterianeae	{ Thiorhodaceae	Sulfobacterias
	{ Cholorobacteriaceae	Sulfobacterias
Pseudomonadineae	{ Thiobacteriaceae	Sulfobacterias
	{ Siderocapsaceae	Ferrobacterias
	{ Spirillaceae	Sulfatorreductoras
	{ Caulobacteriaceae	Ferrobacterias
Chlaminobacteriales	{ Chlamidobacteriaceae	Ferrobacterias
	{ Crenoturucaceae	Ferrobacterias
Beggiatoaceae	{ Beggiatoaceae	Sulfobacterias

Cuadro 1
(15, 8).

Para el estudio de las bacterias sulfoferrosas se han dividido en 3 grupos:

- Bacterias del hierro
- Bacterias del azufre
- Bacterias Sulfato Reductoras

3.3 Bacterias del hierro o ferrobacterias.

Obtienen la energía necesaria para su crecimiento a partir de la transformación de las sales ferrosas en sales férricas. En tanto que en las tuberías de metales ferrosos y en un punto de la superficie no protegido o alterado, que se encuentra en contacto con el agua, siempre ocurre un ataque del metal que da lugar a la formación del hidróxido ferroso (13, 25).

También obtienen su energía de la reducción del CO_2 ; por lo que son bacterias quimioautotróficas. La mayoría de las especies, sin embargo son autótrofas facultativas ya que pueden ocupar materia orgánica (32).

En condiciones normales, el hidróxido ferroso de esas tuberías se transforma en hidróxido férrico y en carbonato, debido al oxígeno y al gas carbónico disueltos. De esta manera obtienen su energía de la oxidación del hierro obtenido de la tubería o del agua. En general el fenómeno se detiene ahí, es decir que no observaremos la disolución del metal con detalle, ya que con el tiempo la presencia de ferrobacterias en el punto en que el metal ha sufrido el ataque acelera la transformación de sales férricas a férricas. De esta manera se observará la formación de densas masas de herrumbre conteniendo los cuerpos bacterianos. A esa formación sigue la disolución ininterrumpida del metal (25, 32).

Se considera que las bacterias del hierro son capaces de metabolizar el hierro reducido existente en el habitat acuoso y depositarlo en forma de óxido férrico hidratado sobre secreciones mucilaginosas. Se ha demostrado que las bacterias que utilizan manganeso, como su fuente de carbono, desarrollan un mecanismo en cierto modo similar (32, 44, 50).

Estas bacterias tienden a producir una gran cantidad de cieno pardo que confiere un tinte rojizo y un desagradable olor al agua potable, originando que el suministro no sea el adecuado para el consumo doméstico o industrial (32).

Se ha observado que la cantidad de hidróxido férrico depositado es muy grande en comparación con el número de células que lo producen (32).

Hasta el presente no se ha logrado ninguna clasificación satisfactoria de estas bacterias. La razón es por la gran diversidad estructural que muestran dichas bacterias y las dificultades con que se tropiezan para cultivarlas de manera correcta. También hay numerosos desacuerdos con respecto a los tipos taxonómicos con base a la morfología. Por otra parte, ciertas bacterias que metabolizan el hierro también son capaces, en ciertas condiciones, de metabolizar el azufre. Pero no pueden clasificarse según dicha particularidad debido a que lo mismo pueden ser protozoarios que algas o eubacterias. Para estudiarlas resulta necesario destacar, de entre los diferentes géneros, aquellas especies y familias que muestran esa facultad de utilizar el hierro (15, 8).

En el cuadro 2 se muestran los microorganismos que constituyen este grupo de bacterias

Ferrobacterias			
ORDEN	FAMILIA	GENERO	ESPECIES
Pseudomonadineae	Caulobacteriaceae	Gallionella	<i>G. major</i> <i>G. minor</i> <i>G. umbellata</i> <i>G. inturcata</i>
Pseudomonadineae	Siderocapsaceae	Naumannella	<i>N. neustonica</i> <i>N. minor</i> <i>N. calensta</i> <i>N. elliptica</i>
Pseudomonadineae	Siderocapsaceae	Ochrobium	
Pseudomonadineae	Siderocapsaceae	Siderococcus	<i>S. limoniticus</i> <i>S. communis</i> <i>S. gracilis</i> <i>S. brevis</i> <i>S. linearis</i> <i>S. duplex</i> <i>S. latus</i>
Pseudomonadineae	Siderocapsaceae	Siderobacter	<i>F. ferroxidans</i> <i>S. treubii</i> <i>S. major</i> <i>S. eusphaera</i> <i>S. monoeca</i> <i>S. botryoides</i>
Pseudomonadineae	Siderocapsaceae	Ferrobacillus	
Pseudomonadineae	Siderocapsaceae	Siderocapsa	<i>S. conglomerata</i> <i>S. globuliferam</i> <i>F. duplex</i> <i>F. rectangularia</i> <i>S. confervarum</i> <i>S. duplex</i> <i>S. vulgaris</i> <i>S. major</i>
Pseudomonadineae	Siderocapsaceae	Siderophaera	
Pseudomonadineae	Siderocapsaceae	Sideronema	
Pseudomonadineae	Siderocapsaceae	Ferribacterium	
Pseudomonadineae	Siderocapsaceae	Sideromonas	
Chlamidobacteriales	Chlamidobacteriaceae	Sphaerotilus	
Chlamidobacteriales	Chlamidobacteriaceae	Leptothrix	<i>L. ochraceae</i> <i>L. thermalis</i> <i>L. sideropus</i> <i>L. discospora</i> <i>L. major</i> <i>L. lopholea</i> <i>L. echinata</i> <i>L. epiphytica</i>

Cuadro 2
(27, 8)

Ferrobacterias

ORDEN	FAMILIA	GENERO	ESPECIES
Chlaminiobacteriales	Chlamidobacteriaceae	Leptothrix	<i>L. volubilis</i> <i>L. skujae</i> <i>L. winogradskii</i> <i>L. pseudovacuolata</i>
Chlaminiobacteriales	Chlamidobacteriaceae	Toxothrix	<i>T. thrichogenes</i> <i>T. gelatinosa</i>
Chlaminiobacteriales	Crenoturucaceae	Crenothrix	
Chlaminiobacteriales	Crenoturucaceae	Clonothrix	<i>C. putealis</i>

Cuadro 2
(27, 8)

3.4 Bacterias del azufre o sulfobacterias.

Las sulfobacterias metabolizan el azufre a partir de compuestos azufrados reducidos y lo expulsan al medio ambiente, lo almacenan dentro de su célula, o bien, lo oxidan, lo mismo que sus compuestos, con formación de productos ácidos, requieren de oxígeno para su desarrollo y ello ayuda a convertir varios sulfuros a productos ácidos. En el primero de estos casos habrá una formación de sedimentos, en el segundo caso se producirá una acidificación corrosiva con modificación importante del pH del medio (51, 55).

Estas bacterias oxidan o reducen cantidades poco significativas de compuestos orgánicos de azufre, presentan una amplia variedad de características morfológicas y bioquímicas (32). Existen sulfobacterias que pueden producir y tolerar fuerte acidez.

Las del género *Thiobacillus* oxida el azufre a ácido sulfúrico y elevan la acidez a niveles de pH de 1, por eso es que corroen las tuberías. El *Desulfobivrio desulfuricans* reduce los sulfatos y otros compuestos de azufre a ácido sulfhídrico (49, 32).

De el grupo de bacterias corrosivas, las sulfuro-oxidantes son las más mejor estudiadas a causa de su asociación con su recobro de metales y los problemas con los que se asocian a las minas ácidas (32).

Estas bacterias sulfuro-oxidantes que pueden oxidar hierro y sulfuro de hierro (pirita), también usan ión ferroso como fuente de energía (6, 72, 20, 2).

En el cuadro 3 se muestran los microorganismos que forman este grupo de bacterias(8)

Por lo que se refiere a la corrosión propiamente dicha, este grupo de bacterias reviste una importancia mucho menor que la de los grupos discutidos anteriormente (15, 10, 77).

Es necesario recordar a este respecto que las sulfobacterias utilizan el ácido sulfhídrico y en general las formas reducidas del azufre para su metabolismo (15). Esto es debido a que en sus células almacenan azufre en forma de glóbulos refrigerantes visibles al microscopio. Cuando la fuente que les proporciona compuestos azufrados llega a agotarse, entonces utiliza el azufre que ha guardado como reserva (19).

De esta manera se observa que estas bacterias tienen una acción limitada en lo que se refiere a la corrosión. A pesar de ello, ocasionan perjuicios que no pueden pasarse por alto, como son por ejemplo la formación de lodo en el interior de las tuberías, la modificación del pH del medio, etc (19).

Sulfobacterias

ORDEN	FAMILIA	GENERO	ESPECIES
Rhodobacterianae	Thiordaceae	Thioisarcina	<i>T. rosea</i>
Rhodobacterianae	Thiordaceae	Thiopedia	<i>T. rosea</i>
Rhodobacterianae	Thiordaceae	Thiocapsa	<i>T. roseopersicina</i> <i>T. floridana</i>
Rhodobacterianae	Thiordaceae	Thiodictyon	<i>T. elegans</i>
Rhodobacterianae	Thiordaceae	Thiothece	<i>T. gelatinosa</i>
Rhodobacterianae	Thiordaceae	Thiocystis	<i>T. violacea</i> <i>T. rufa</i>
Rhodobacterianae	Thiordaceae	Lamprocystis	<i>L. roseopersicina</i>
Rhodobacterianae	Thiordaceae	Amoebacter	<i>A. roseus</i> <i>A. bacillosus</i> <i>A. granula</i>
Rhodobacterianae	Thiordaceae	Thiopolycossua	<i>T. ruber</i>
Rhodobacterianae	Thiordaceae	Thiospirillum	<i>T. jenense</i> <i>T. sanguineum</i> <i>T. violaceum</i> <i>T. rosenberghii</i> <i>T. rufum</i>

Cuadro 3
(27, 8)

Sulfobacterias

ORDEN	FAMILIA	GENERO	ESPECIES
Rhodobacteriana	Thiodaceae	Rhodomonas	<i>R. rosea</i> <i>R. gracilis</i> <i>R. linsbaueri</i> <i>R. pendens</i>
Rhodobacteriana	Thiodaceae	Rhodotheca	<i>R. pendens</i>
Rhodobacteriana	Thiodaceae	Chromatium	<i>Ch. gobii</i> <i>Ch. warmingii</i> <i>Ch. linsbaueri</i> <i>Ch. okenii</i> <i>Ch. weisse</i> <i>Ch. cuculliferum</i> <i>Ch. minus</i> <i>Ch. vinosum</i> <i>Ch. violaceum</i> <i>Ch. molischii</i> <i>Ch. gracile</i> <i>Ch. limicola</i> <i>Ch. thiosulfatophilum</i>
Rhodobacteriana	Cholobacteriaceae	Chlorobum	<i>P. clatratiiforme</i> <i>P. aggregatum</i> <i>P. parallelum</i> <i>C. sulphurica</i> <i>Ch. symbioticum</i>
Rhodobacteriana	Cholobacteriaceae	Pelodictyon	<i>Ch. aggregatum</i>
Rhodobacteriana	Cholobacteriaceae	Clathrochloris	<i>Cylinderogloea</i>
Rhodobacteriana	Cholobacteriaceae	Chlorochromatium	<i>T. bovista</i> <i>T. cristalliferum</i> <i>T. retiformans</i>
Rhodobacteriana	Cholobacteriaceae	Thiobacterium	<i>M. mobilis</i> <i>M. bipunctata</i>
Pseudomonadinea	Thobacteriaceae	Macromonas	<i>T. majus</i> <i>T. winogradskyi</i> <i>T. bipunctata</i> <i>T. thioparus</i> <i>T. ferroxidans</i> <i>T. novellus</i> <i>T. coproliticus</i> <i>T. denitrificans</i> <i>T. neopolitanus</i> <i>T. concretivorus</i> <i>T. thioxidans</i> <i>T. traweni</i>
Pseudomonadinea	Thobacteriaceae	Thiovulum	
Pseudomonadinea	Thobacteriaceae	Thiospira	
Pseudomonadinea	Thobacteriaceae	Thiobacillus	
Beggiotoaceae	Beggiotoaceae	Thiospirillopsis	

Cuadro 3
(27, 8)

Sulfobacterias			
ORDEN	FAMILIA	GENERO	ESPECIES
Beggiotoaceae	Beggiotoaceae	Beggiotao	<i>B. alba</i> <i>B. arachnoidea</i> <i>B. leptomitiformis</i> <i>B. leptomitiformisa</i> <i>B. gigantea</i> <i>B. mirabilis</i>
Beggiotoaceae	Beggiotoaceae	Thioploca	<i>T. schmidlei</i> <i>T. ingrica</i> <i>T. minuta</i> <i>T. mixta</i>
Beggiotoaceae	Beggiotoaceae	Thiothrix	<i>T. tenuis</i> <i>T. tenuissima</i> <i>T. voukii</i> <i>T. longitaticulata</i> <i>T. anulata</i> <i>T. marina</i>

Cuadro 3
(27, 8)

3.5 Bacterias sulfato reductoras o BSR.

Las BSR son anaerobias obligadas y se les encontrará bajo las capas de herrumbre que se hallan en contacto con el metal, donde no llega el oxígeno. Se desarrollan también bajo sedimentos marinos voluminosos, productos de corrosión formado por el hierro en agua de mar. Estas bacterias transforman los sulfatos en ácido sulfhídrico, el cual se combina con las sales ferrosas para dar un sulfuro negro. El ataque corrosivo microbiano es localizado, por lo que es capaz de producir fallas en los equipos en corto tiempo. Los géneros más conocidos de estas bacterias son el *Desulfovibrio* y el *Desulfatomaculum* (82).

Las BSR se encuentran en casi todos los medios ambientes del planeta. Ellas están presentes en manchas o suciedades marinas, áreas geotermales, aceite, gas natural, depósitos de sulfuro, etc. Toleran temperaturas por debajo de los -5 a los -75 °C y muestran considerable adaptabilidad a nuevas condiciones de temperatura, pueden crecer "in vacuo" tolerando presiones de 1×10^5 Kpa, toleran pH de 5 a 9.5 y un amplio rango de presión osmótica. Por tanto son, de este modo adaptables a varios medios naturales sobre este planeta. Las BSR son activas a pH de 6 - 8 (34, 8, 15, 27).

Se ha comprobado que estas bacterias afectan a los metales ferrosos, tuberías enterradas, pipas, tanques de combustibles, embarcaciones, etc., y de manera muy

especial a las tuberías de plomo (25, 51). También se les ha encontrado en la tecnología del aceite, en donde corroen la maquinaria de la bomba, tanques de almacenamiento y otras instalaciones. Al generar el H_2S , contaminan el gas natural asociado con el depósito de aceite; también crecen en aguas de inyección y obstruyen los sistemas (25, 51, 32, 45).

La detección de las BSR solamente pueden ser positivas mediante pruebas en laboratorio. Sin embargo, un número de síntomas pueden ser observados en el campo, por el personal en operación, que dará una evidencia de la posible existencia de estos microorganismos. La presencia de las BSR pueden sospecharse si las siguientes condiciones se observan (55, 77):

- 1.- Comienza a darse una corrosión
- 2.- Cuando cualquier agua de producción o agua de reserva es oscura o contiene partículas negras en suspensión, o sea sulfuro de hierro.
- 3.- Cuando se detecta la presencia de una fuente gaseosa en el agua de cualquier sistema de inyección, ya que puede tratarse de sulfuro de hidrógeno.
- 4) Cuando se presenta un crudo, un gas o agua del pozo, con olor desagradable a huevo podrido. El gas producido puede reaccionar con los metales hasta disolverlos, tales como el hierro, y generar depósitos negros.
- 5) Cuando se presenta la corrosión del tipo de picadura y este presente un depósito negro, especialmente si la capa se desprende fácilmente al frotarla; revelando un brillo metálico de plata debajo de esta.

Algunas veces las coloraciones producidas por estas bacterias pueden cambiar a rojo, amarillo y verde ya que el oxígeno puede activar a las bacterias aeróbicas; lo cual puede enmascarar este tipo de bacterias (15, 27).

Cualquiera de estos síntomas, justifica exámenes posteriores y pruebas de laboratorio que determinen el grado en que las BSR contribuyen al problema que se ha experimentado (15).

De tal manera que el sulfato (SO_4^{2-}) se reduce a sulfuro (S^{2-}) por las BSR en un proceso conocido como reducción no asimilatoria, como por ejemplo es el caso del *Desulfovibrio* (15).

Así el nombre de BSR es convencionalmente reservado para la clase de microbios los cuales conducen a la asimilación de sulfato. En este tipo de proceso, la acción del ión sulfato, es como un agente oxidante para la asimilación de la materia orgánica y el oxígeno convencional para la respiración, una pequeña cantidad de

sulfuro reducido es asimilado por el organismo, pero todo esto está relacionado con el medio ambiente externo (26).

Una característica peculiar de las BSR, es que ellas crecen con sulfato, reduciendo este a sulfito, también son bacterias que tienen la capacidad de crecer solo con sulfito, tiosulfato y usualmente tetrationato (52).

A este tipo de bacterias se les ha encontrado en aguas naturales de todo grado de salinidad, que va desde cero hasta una saturación aproximada de 2 % de NaCl. La población que se suele encontrar más frecuentemente es la del *Desulfovibrio* (52, 45).

Muchos aceites pueden ser obtenidos de pozos por inyección de aguas, de manera que se pueda desplazar el aceite residual, este proceso es el conocido como recuperación secundaria. El procedimiento estimula el crecimiento de las BSR, lo cual disminuye y obstruye el proceso, debido al contacto íntimo con un flujo de agua que contiene sales en solución (51).

Muchas de estas bacterias no requieren de factores especiales para su crecimiento. Estas requieren de materiales orgánicos como son: extracto de levadura y una mezcla de aminoácidos que estimulan su crecimiento, así como lactato de sodio. Y sobre todo el amonio que es una principal fuente de nitrógeno en el medio convencional para este tipo de BSR (15, 27).

Una vez que se ha dado el crecimiento de las BSR en el medio ambiente, la química y naturaleza física de este medio cambia, algunas veces drásticamente (55).

Las BSR necesitan de un donador de hidrógeno, un aceptor de hidrógeno y una fuente de nitrógeno y fósforo. Si el hidrógeno molecular se usa como un donador de hidrógeno, se requerirá una fuente de carbono inorgánico (16).

Las BSR son anaerobias estrictas, algunas son conocidas actualmente como capaces de tener crecimiento fermentativo en ausencia de sulfato, usando por ende levadura para su crecimiento fermentativo sin presencia de oxígeno, que reduce el sulfato SO_4^{2-} , a sulfuro de hidrógeno (H_2S) (26). Requieren como fuente de energía varios compuestos orgánicos, como: ácidos, fumarato, malato o CO_2 , que pueden ser usados como aceptores de electrones. En los años 80's se encontraron bacterias capaces de crecer en medios que contienen nitrato o nitrito diferente al amonio, como es el *Desulfovibrio desulfuricans* (30).

Son organismos heterótrofos, es decir, se alimentan de sustancias orgánicas, además de sales y agua. De acuerdo con algunos estudios, la reducción de sulfatos puede tener lugar en ausencia de materia orgánica, y entonces en este tipo de reducción deberá ser considerada como autotrófica. Esto es, que estos organismos cubren sus necesidades metabólicas por medio de la asimilación exclusiva de sustancias como el CO_2 , sales y agua (42, 19).

Bacterias sulfato reductoras

ORDEN	FAMILIA	GENERO	ESPECIES
Pseudomonadineae	Spirillacea	Desulforomona	<i>D. acetosidans</i>
Pseudomonadineae	Spirillacea	Desulfovibrio	<i>D. desulfuricans</i> <i>D. aestuari</i> <i>D. rubentschikii</i> <i>D. vulgaris</i> <i>D. africanus</i> <i>D. gigans</i> <i>D. salicigenis</i> <i>D. baculatus</i> <i>D. sapovorans</i> <i>D. baasii</i> <i>D. thermophilus</i>
Pseudomonadineae	Spirillacea	Desulfomonas	<i>D. pigra</i>
Pseudomonadineae	Spirillacea	Desulfococcus	<i>D. multivorans</i>
Pseudomonadineae	Spirillacea	Desulfobacter	<i>D. postgatei</i>
Pseudomonadineae	Spirillacea	Desulfobulbus	<i>D. propionicus</i>
Pseudomonadineae	Spirillacea	Desulfosarcina	<i>D. variabilis</i>
Pseudomonadineae	Spirillacea	Desulfonema	
		Desulfotomaculum	<i>D. nitrificans</i> <i>D. orientis</i> <i>D. ruminis</i> <i>D. antarcticum</i> <i>D. accotoxidans</i>

Cuadro 4
(27, 8)

La reducción de sulfatos en presencia de materia orgánica es de limitado significado en sistemas de agua potable, debido a las bajas cantidades presentes de materia orgánica (17, 44).

No obstante estos microorganismos son esencialmente anaeróbios, son capaces de desarrollarse aparentemente en varias partes por millón de oxígeno y no mueren al exponerse continuamente por un tiempo menor de una semana (63, 15). En el cuadro 4 se muestran los microorganismos que constituyen este grupo de bacterias

En general se ha observado que los organismos microscópicos y macroscópicos que producen corrosión viven y se reproducen en un intervalo de pH entre 0 y 11, a temperatura de entre -1 a 82 ° C y bajo presiones de hasta mil atmósferas (13, 25, 51).

3.6 Importancia del *Desulfovibrio desulfuricans* y de el *Thiobacillus ferrooxidans*

Las bacterias del azufre más importantes en las aguas limpias y residuales son las reductoras del azufre, entre las que se encuentra el género *Desulfovibrio* y los microorganismos aerobios unicelulares que oxidan el azufre, del género *Thiobacillus* (49, 16, 7).

Debido que las bacterias del género *Desulfovibrio* y *Thiobacillus* se destacan por su importancia científica, ecológica, económica y sobre todo por que son en especial importantes en el área de la corrosión ya que el *Desulfovibrio desulfuricans* se destaca por su capacidad de reducir el sulfato en sulfuro, lo que origina el olor fétido característico, posteriormente esta reducción provee sustrato para las bacterias sulfatooxidantes, que convierten el sulfuro, pasando por el azufre elemental, nuevamente a sulfato, como es el caso del *Thiobacillus ferrooxidans* (34, 20, 53).

Lo anterior hace entender que este tipo de bacterias viven en forma simbiótica, lo que las hace importantes en el estudio de la corrosión bacteriana.

Las bacterias del azufre en aguas limpias y residuales, más importantes son (62):

a) Las reductoras del azufre (*Desulfovibrio*), que contribuyen en gran medida a las tuberculaciones y la corrosión galvánica de la tuberías de aguas, gusto y olor desagradable.

b) Aerobias unicelulares oxidantes del azufre (*Thiobacillus*), que por su producción del ácido sulfúrico han contribuido a la destrucción del alcantarillado y corrosión de metales (49).

3.6.1 *Desulfovibrio desulfuricans*. (Beijerinck, 1895)

Importancia.- Su crecimiento es especialmente importante en la corrosión de los metales, ya que no ataca al metal directamente, pero acelera la corrosión electrolítica por la despolarización de la superficie anódica y catódica, por eso es que se lleva una acción corrosiva, causando la corrosión anaerobia. La reducción del sulfato al sulfuro de hidrógeno resulta de la despolarización catódica. El sulfuro de hidrógeno formado de la reacción de reducción de sulfato con hierro ferroso forma sulfuro de hidrógeno; el efecto de este tipo de reacción es una despolarización anódica. Adicionalmente, una actividad muy importante de la deshidrogenasa, es que esta remueve la capa protectora de hidrógeno que envuelve la superficie de las pipas de hierro, exponiendo de esta manera el ataque corrosivo. Solo, la actividad metabólica de las BSR producen la formación del hidróxido de hierro, el cual es un producto corrosivo (48, 19, 47).

Características.- Se encuentra difundida en el medio ambiente acuático y terrestre. Es una de las bacterias mejor conocidas de este género, que necesitan materia orgánica y suficientes niveles de sulfato (73, 19, 47).

En el grupo de BSR, es tal vez uno de los microorganismos que más estudio ha tenido.

Las especies de *Desulfovibrio* se pueden caracterizar por su nutrición similar; son fácilmente adaptables con lactato de hidrógeno y utilizan solo un poco de los otros sustratos (21).

Algunas especies pueden crecer aparentemente autotróficamente. Este procedimiento es considerado por ello de importancia en la corrosión de tuberías, el hierro es uno de los elementos que pueden sustituir al hidrógeno, ya que muestra un alto grado de requerimiento por el hierro inorgánico (20).

Morfología.-Bastoncillos curvos de 0.5 a 1 micra de ancho por 1 a 5 micras de largo se encuentran aislado, aunque a veces también en pequeñas cadenas, algunos lo son sigmoides o en forma de espiral. Constan de un flagelo polar para su motilidad, no forma endosporas, siendo gram-negativo. Su morfología se ve influida por su tiempo y el medio, las bacterias, más viejas aparecen negras, coloración debida a un precipitado de sulfuro de hierro (8). La temperatura óptima de crecimiento suele ser de 44 °C, algunas veces puede crecer por debajo de 0 °C, con un requisito de 2.5% de NaCl. (43).

Temperatura óptima: 25-30 °C

pH óptimo: 6.0-7.5

Requerimiento de Oxígeno:

Componentes inorgánicos:

Productos metabólicos finales:

Organismo:

Límite: 15-65 °C

Límite: 5.0-9.0

Anaerobia

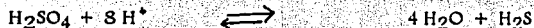
Sulfato y tiosulfato

Sulfuro de hidrógeno.

Quimiorganotrófico.

Reduce los sulfatos o compuestos sulfúricos a H₂S. El lactato, piruvato y usualmente el malonato, que son utilizados por este microorganismo, son oxidados a acetato y CO₂, los carbohidratos son raramente utilizados, sin producir gas (63, 30, 8).

La producción del H₂S se lleva a cabo mediante la siguiente reacción.



La producción del ácido sulfhídrico puede alcanzar 3 100 mg/l

Se ha observado que en muchas de las aguas que contiene sulfatos decae la

vegetación, lo cual proporciona materia orgánica y se establecen condiciones anaerobias. El H_2S se combina con la sal de hierro para dar un precipitado de FeS por lo que el H_2S se asocia con un ennegrecimiento. De aquí que el mar negro sea llamado así (20).

Habitat.- Agua, reservas de aceites, lodo, tierra. También es encontrado en aguas dulces, particularmente contaminadas, en zonas ricas con materiales orgánicos mostrándose ennegrecidas y con formación de sulfatos, en forma de manchas, las cuales también se han observado en aguas saladas (8). Es muy común en la industria del petróleo, pero también se han reportado otras especies de *Desulfobrio*, como el *termodesulfuricans*, *aestuarii*, *rubensschinkii*, *orientalis* y *sulfugentii*. (16)

Cultivo.-Usualmente se requiere de un contenido de medio especial de sulfatos; el contenido de sales de hierro origina el ennegrecimiento y los metabolitos después se asocian con el precipitado de FeS . También se utiliza peptona, asparagina, glicina, alanina, ácido aspártico, etanol, propanol, butanol, succinato, como donadores de electrones (43). Como aceptor usan el sulfato y otras especies usan el nitrato (NO_3^-), reduciendo el NO_3^- a amonio NH_3 u otros compuestos orgánicos para generar energía por medio de la fermentación complementando la ausencia del sulfato u otro aceptor de electrones terminal. El compuesto orgánico fermentable, más común es el piruvato, el cual es convertido a acetato, CO_2 e H_2 (36, 19, 47).

En agar con sulfato, lactato y exceso de sales ferrosas produce colonias totalmente negras; en agar con glucosa peptonada sulfatada se producen colonias similares pero con una aparición lenta de lustre amarillento en el periodo primario (8).

En gelosa peptonada y glucosa, las colonias son pequeñas, circulares y de aspecto sedoso.

No se observa producción de nitritos a partir de nitratos

Crece en lactato con sulfato a una temperatura óptima de 34 °C. Y piruvato con sulfato

En la literatura aparecen un gran número de medios diferentes para esta bacteria, pero el medio más comúnmente empleado para este tipo es el Chantereau, el cual fue creado y utilizado por Chantereau, resultando así ser un medio especial para este tipo de microorganismo (15).

Postgate propuso una lista de propiedades de *Desulfovibrio desulfuricans* para su identificación (16):

- 1.- Organismo capaz de crecer con sustratos bajos de ácidos grasos pero no butiratos, acetatos y propionatos.
- 2.- No forma gas con carbohidratos
- 3.- Forma colonias negras exclusivamente sin halos en tubos hondos de agar, que contengan glucosa, peptona, extracto de levadura, sulfatos y sal ferrosa.
- 4.- Se adapta a temperaturas de hasta 50 °C
- 5.- Se adapta a un 10 % de NaCl

3.6.2 *Thiobacillus ferrooxidans* (Temple y Colmer, 1951).

Importancia.- Oxida compuestos ferrosos a férricos en medios altamente ácidos, quimioautótrofo obligado, su importancia radica en la capacidad para oxidar compuestos ferrosos en medios ácidos donde la autooxidación no es posible (37, 36).

Existen bacterias acidófilas que frecuentemente viven asociadas con el *T. ferrooxidans* ya que originan un medio ácido, tal es el caso de la *Metallogenium*.

Esta bacteria muestra gran importancia económica, pues esta grandemente involucrado en la extracción mineral del cobre, uranio y sobre todo en la biooxidación de minerales de oro. Se involucra en el drenaje de las minas ácidas, en la recuperación de metales preciosos ricos en pirita y carbón; lo que es de gran interés biominero (37, 52).

En la biominería se ha encontrado que también oxida iones metálicos como el uranio, iones cuprosos (Cu^+), iones estaño (Sn^{2+}) e iones antimonio (Sb^{3+}) (37, 72, 52).

El drenaje de minas ácidas ocurre por el ataque del *T. ferrooxidans* a la pirita (73, 19). La mezcla de el agua de las minas ácidas con el agua natural de los rios y lagos causa serios problemas en la calidad del agua, así mismo tanto el ácido como los minerales disueltos son tóxicos para la vida acuática (73, 19; 47).

La actividad oxidativa del *Thiobacillus* puede producir altas temperaturas en algunos depósitos minerales. Lo cual puede exceder los límites de tolerancia de algunas especies, eliminandolas de esta manera (73, 19).

Características.- Este microorganismo es conocido por su habilidad de adaptarse a diferentes condiciones ambientales, es decir crece en concentraciones de sustratos, hierro y azufre, diferentes. Ya que es un microorganismo extremadamente versátil,

capaz de crecer en hierro ferroso, sulfuro elemental, tiosulfato y minerales de sulfuro, por medio de la presencia de compuestos de CO_2 y compuestos inorgánicos (6, 72, 65, 61, 2, 69, 36).

Especie autotrófica estricta, ya que requiere de un donador de electrones inorgánico (Fe^{2+}), un aceptor de electrones (O^{2+}) y uso de dióxido de carbono como una mejor fuente de carbono. Muchas y probablemente todas las especies de *Thiobacillus*, son capaces de asimilar ciertos compuestos orgánicos provenientes del tiosulfato o de otros donadores de electrones inorgánicos como fuente de carbono (70).

Morfología.- Bacilos cortos flagelados de 0.5 a 1.0 micras con extremos redondeados, se encuentran en pares o aislados, raramente en pequeñas cadenas. Gram-negativo. Genera energía y tiene capacidad de fijar bióxido de carbono de la oxidación del hierro inorgánico, y reduce compuestos sulfurados (13, 78, 6, 5, 8). Se han observado que pueden crecer a 30 °C de 2-4 días bajo una atmósfera de 5% de CO_2 y 95% de aire (37).

Temperatura óptima: 28-30 °C	Límite: 15-34 °C
pH óptimo: 2.5-5.8	Límite: 1.4-6.0
Requerimientos de oxígeno:	Aerobia
Componentes inorgánicos:	Fe^{2+} , S^0 , Sulfuros
Productos metabólicos finales:	H_2SO_4
Organismo:	Acidófilo quimilitotrófica

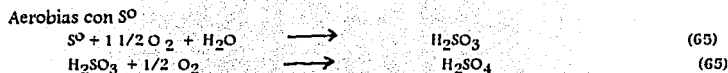
El oxígeno así como ciertos nutrientes como el amonio, nitrógeno, fósforo, sulfato son esenciales para el crecimiento de esta bacteria (73).

Bacteria quimilitotrófica, ya que obtiene su energía de la oxidación de sustancias inorgánicas, en donde metabólicamente la oxidación de estos substratos inorgánicos involucra una respiración aerobia, pero de igual forma este microorganismo crece en condiciones anaerobias.

Cultivo.-Sobre gelosa con tiosulfato se presentan colonias muy finas y pequeñas de bordes irregulares. Las colonias de cierta edad presentan un centro blancuzco (34, 69, 8).

Han demostrado que diferentes muestras de este tipo de bacteria muestran una actividad de oxidación aeróbica del Fe^{2+} o S^0 y anaeróbicamente del S^0 y el Fe^{3+} (49, 7, 37, 65, 20)

Es un microorganismo aeróbico, pero que bajo condiciones anaerobias, el ión férrico puede reemplazar al oxígeno como un aceptor de electrones, para así producir la oxidación del sulfuro elemental (52).



En la literatura aparecen un gran número de medios diferentes para el crecimiento de esta bacteria, pero el medio más comúnmente empleado por los investigadores es el medio 9K, el cual fue originalmente descrito por Silverman y Lundgren, y el cual contiene FeSO₄ como fuente de energía, resultando uno de los mejores medios de aislamiento (37, 21, 33, 32).

Para el mantenimiento de cultivos puros de *T. ferrooxidans* deben ser colocados en agar inclinado en tubos de 18 ml, con tapón rosca a una temperatura de 4°C. Dichas células serán viables aún dentro de los 9 meses.

En un medio líquido con tiosulfato se observa una turbidez uniforme. Al cabo de 2-3 semanas, se forma una fina película(8). En gelosa con hierro ferroso, el aspecto de las colonias varía de acuerdo con la concentración de las sales ferrosas. Las concentraciones débiles presentan colonias pequeñas y amarillas que se impregnan con hidróxido férrico hidratado; las concentraciones fuertes corresponden a un cultivo abundante impregnado de hidróxido férrico. En un medio líquido con sales ferrosas tiende a cambiar de ámbar a pardo rojizo debido a la producción de un precipitado de hidróxido férrico. La película se forma de hidróxido férrico y de bacterias (34).

En medio sólido suplementado con sales inorgánicas y hierro a un pH de 2.4 o con tiosulfato a pH de 4.5, se forman colonias, y dependiendo de la concentración la morfología y fisiología varían, en cuanto a color, tamaño entre otras (5).

Se han reportado que los cultivos con 7-8 % de CO₂ origina una estimulación en el crecimiento celular, y los cultivos adaptados y desarrollados en un medio con contenido de aire sin CO₂, muestran un pobre y lento crecimiento (37).

Habitat. Se encuentran en tierra, agua ácida que contenga hierro (pirita), medios contaminados, manantiales ácidos. Es muy comúnmente encontrarlo en medios ambientes contaminados (73, 19, 47). Habita en medios donde el ácido sulfúrico es el ácido dominante, y también hay una gran cantidad de sulfato presente. Bajo estas condiciones el hierro férrico no precipita como hidróxido, pero si como un

complejo de sulfato mineral llamado jarozita ($\text{Fe}_3\text{H}(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$). La jarozita es un precipitado amarillo o café y es responsable de una de las manifestaciones del drenaje de las minas ácidas (73, 19, 47).

Morfológicamente el *Thiobacillus* es similar a las *Pseudomonas*, pero difiere en que el *Thiobacillus* puede crecer litotróficamente usando la reducción de compuestos de sulfuro; pocos *Thiobacillus* pueden crecer organotróficamente con donadores orgánicos de electrones que bajo estas condiciones se parece a la *Pseudomonas*. Pocas son las *Pseudomonas* que pueden oxidar tiosulfato a tetratiónato (19).

Las reacciones de oxidación del hierro de su forma ferrosa (Fe^{2+}) a su forma férrica (Fe^{3+}) es una reacción que ocurre en pocas bacterias. Ya que solo una pequeña cantidad de energía es capaz de realizar esta oxidación (19).

3.7 Medios de cultivos

Durante la descripción de las bacterias corrosivas y de los perjuicios industriales que acarrearán, se ha observado que muchas de las bacterias son quimiolitotróficas y otras quimiorganotróficas. Los medios de cultivo deberán pues tener en consideración esas particularidades y adaptarse a cada grupo de bacterias.

En consecuencia en el caso del cultivo de las bacterias quimiolitotróficas convendrá no introducir ningún compuesto orgánico en el medio. Esto resulta fácil para los medios líquidos, que de hecho consisten en una solución de sales minerales en un pH determinado. Sin embargo por lo que respecta a los medios sólidos el caso es más delicado. El medio sólido que más se emplea es gelosa. Que es un material orgánico complejo que se obtiene de ciertas algas y que, a pesar de que es poco apreciado por las bacterias, contiene cierto número de impurezas orgánicas que alteran la composición del medio.

Es necesario recalcar que para algunas bacterias resulta ser tóxico el uso de agar.

Por lo que se refiere a las bacterias quimiorganotróficas, los medios de cultivo usuales son convenientes si se les adapta a las exigencias metabólicas de la bacteria que se cultivará.

Tales medios consistirán en una solución de sales minerales apropiadas, enriquecidas con azúcares, peptonas, etc., que pueden solidificarse por efecto de la gelosa o de la gelatina.

3.7.1 Medios para ferrobacterias.

9K, A, Starkey.

MEDIO 9k (27, 52)

Medio oxidante del hierro, para el aislamiento e identificación de la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans*. Este medio se prepara de la siguiente manera:

Sales basales:

Sulfato de amonio (NH ₄) ₂ SO ₄	3.5 gr
Cloruro de potasio KCl.....	0.116gr
Fosfato de hidrógeno dipotásico K ₂ HPO ₄	0.058gr
Sulfato de magnesio heptahidratado. MgSO ₄ .7H ₂ O.....	0.058gr
Nitrato de calcio Ca(NO ₃) ₂	0.0168gr
Acido sulfúrico. H ₂ SO ₄ 10 N	1.0 ml.
Agua destilada H ₂ O	420 ml.

- 1) Disolver las sales y ajustar el pH a 2.7. con ácido 1:1 o con sosa 1:1
- 2) Esterilizar en autoclave a 15 lb. durante 15 min.

Fuente de energía:

Sulfato ferroso heptahidratado FeSO ₄ .7H ₂ O	74.624 gr
Agua destilada H ₂ O	580 ml.

- 1) Disolver la sal en agua destilada
- 2) Esterilizar por filtración (atrás de un filtro de 0.22 micras)
- 3) Cuando se hallan enfriado las sales basales se procede a combinarse con la fuente de energía.
- 4) Conservar el medio en el refrigerador hasta 2 semanas, después de este tiempo desechar, pues se tornará opalescente.

MEDIO A (8)

Medio para el aislamiento de las bacterias del género *Tiobacillus*.

Sales basales:

Cloruro de amonio	
NH_4Cl	0.3gr
Fosfato de hidrógeno monopotásico	
KH_2PO_4	3.0gr
Cloruro de magnesio	
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.4gr
Cloruro férrico.	
FeCl_3	0.01gr
Agua destilada	
H_2O	1000 ml
Azufre en flor	
S^0	0.25 gr

- 1) Disolver todas las sales excepto el azufre en flor
- 2) Ajustar el pH a 4.6
- 3) Agregar en tubos
- 4) Esterilizar a 15 lb. 45 min.
- 5) Dejar enfriar y se mantiene en refrigeración
- 6) Después de la inoculación del medio se agrega el azufre en flor

Medio Starkey (8)

Sales basales:

Sulfato de amonio	
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.3gr
Fosfato de hidrógeno monopotásico	
KH_2PO_4	3.5gr
Sulfato de magnesio heptahidratado	
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5gr
Cloruro de calcio.	
CaCl_2	0.25gr
Sulfato de hierro heptahidratado	
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	18 mg
Azufre en polvo	
S^0	50 gr

- 1) Disolver las sales en agua destilada excepto el azufre en polvo.
- 2) Ajustar el pH a 5
- 3) Esterilizar en autoclave a 15 lb durante 15 minutos.
- 4) El azufre en polvo se agrega después de la inoculación del medio

MEDIO 9k(27, 52)

Medio oxidante del hierro, para el aislamiento e identificación de la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans*. Este medio se preparará de la siguiente manera:

Sales basales:

Sulfato de amonio (NH ₄) ₂ SO ₄	3.0 gr
Cloruro de potasio KCl.....	0.10gr
Fosfato de hidrógeno dipotásico. K ₂ HPO ₄	0.50gr
Sulfato de magnesio heptahidratado MgSO ₄ ·7H ₂ O.....	0.50gr
Nitrato de calcio Ca(NO ₃) ₂	0.01gr
Acido sulfúrico H ₂ SO ₄ 10 N	1.0 ml.
Agua destilada H ₂ O	700 ml.

- 1) Disolver las sales basales en el agua destilada y ajustar el pH a 2.7.
- 2) Esterilizar en autoclave a 15 lb. durante 15 min.

Fuente de energía:

Sulfato ferroso heptahidratado FeSO ₄ ·7H ₂ O	44.22 gr
Agua destilada H ₂ O	300 ml.

- 1) Disolver la fuente de energía en agua destilada
- 2) Esterilizar por filtración usando un filtro de 0.22 micras
- 3) Cuando se hallan enfriado las sales basales se procede a combinarse con la fuente de energía.
- 4) Conservar el medio en el refrigerador hasta 2 semanas, después de este tiempo desechar, se observará opalescente y verde.

3.7.2 Medios para BSR

C, Starkey, Chatereau (8, 16)

MEDIO C

Medio para el aislamiento e identificación de la BSR

Sales basales:

Lactato de sodio CH ₃ CHOHCOONa.....	0.2 gr
Cloruro de sodio NaCl	1.0 gr
Extracto de levadura	0.1 gr
Sulfato de magnesio MgSO ₄	0.025gr
Fosfato de hidrógeno monopotásico KH ₂ PO ₄	0.1 gr
Acido ascórbico CH ₂ (OHCCOOH)COOHCH ₂ COOH.....	0.025gr
Clavos de hierro	120 u.

- 1) Disolver las sales basales en agua destilada
- 2) Ajustar el pH a 7.5
- 3) Esterilizar a 15lb. 15 min.
- 4) Al momento de inocular el medio se colocan los clavos previamente flameados.

Medio de Starkey

Sales basales:

Sulfato de amonio (NH ₄) ₂ SO ₄	0.5 gr
Fosfato dipotásico KH ₂ PO ₄	0.40 gr
Cloruro de calcio anhidro CaCl ₂	0.25 gr
Sulfato de magnesio MgSO ₄	0.5 gr
Sulfato de fierro FeSO ₄	10.0 mg
Agua destilada H ₂ O.....	1000 ml.

- 1.- Disolver las sales basales en el agua destilada
- 2.- Ajustar el pH a 5
- 3.- Esterilizar en autoclave 15 min. 15 lb.

Medio de Chatereau

Sales basales:

Lactato de sodio al 70%	
CH ₃ CHOHCOONa.....	5 (ó 3 gr si es puro)
Sulfato de sodio	
Na ₂ SO ₄	1 gr
Sulfato de magnesio	
MgSO ₄	1gr
Sulfato de amonio	
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5 gr
Fosfato dipotásico	
KH ₂ PO ₄	0.2 gr
Acetato de sodio	
CH ₃ COONa \cdot 3H ₂ O.....	0.2 gr
Cloruro de sodio	
NaCl.....	0.1 gr
Aspargina	
NH ₂ COOH(H) CH ₂ CONH ₂	0.1 gr
Nitrato de potasio	
KNO ₃	0.05 gr
Clorhidrato de cisteína	
.....	0.05 gr
Cloruro de calcio anhidro	
CaCl ₂	0.05 gr
Sulfato de zinc	
ZnSO ₄	0.0001 gr
Sulfato de cobre	
CuSO ₄	0.0001 gr
Sulfato de manganeso	
MnSO ₄	0.001 gr
Gelosa	
.....	4.5 gr
Agua	
H ₂ O.....	1000 ml.

- 1.- Disolver las sales basales en el agua destilada
- 2.- Ajustar el pH a 5
- 3.- Esterilizar en autoclave 15 min. 15 lb.

Medio de Chatereau

Sales basales:

Lactato de sodio al 70%	
CH ₃ CHOHCOONa.....	5 (ó 3 gr si es puro)
Sulfato de sodio	
Na ₂ SO ₄	1 gr
Sulfato de magnesio	
MgSO ₄	1gr
Sulfato de amonio	
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5 gr
Fosfato dipotásico	
KH ₂ PO ₄	0.2 gr
Acetato de sodio	
CH ₃ COONa·3H ₂ O.....	0.2 gr
Cloruro de sodio	
NaCl.....	0.1 gr
Aspargina	
NH ₂ COOH(H) CH ₂ CONH ₂	0.1 gr
Nitrato de potasio	
KNO ₃	0.05 gr
Clorhidrato de cistefna	
.....	0.05 gr
Cloruro de calcio anhidro	
CaCl ₂	0.05 gr
Sulfato de zinc	
ZnSO ₄	0.0001 gr
Sulfato de cobre	
CuSO ₄	0.0001 gr
Sulfato de manganeso	
MnSO ₄	0.001 gr
Gelosa	
.....	4.5 gr
Agua	
H ₂ O.....	1000 ml.

- 1) Disolver las sales basales en agua destilada
- 2) Esterilizar en autoclave a 110 °C durante 20 min.
- 2) Ajustar a un pH de 7.5 con ácido 1:1 o sosa 1:1

Preparar una solución al 5% de sulfato ferroso amoniacal y una solución al 10% de sulfito de sodio $7H_2O$. Estas dos soluciones se esterilizan por filtración, usando filtros de 0.22 micras

Agregar estérilmente al medio gelosado 1 ml de la solución de sulfato ferroso amoniacal y 2 ml de solución de sulfito de sodio.

Dejar enfriar en posición vertical después de haber hecho la distribución en tubos de 150 mm de longitud, llenos en sus dos terceras partes. (Conservar en refrigeración)

3.7.3 Medios para sulfobacterias.

Medio para especies acidificantes de *Thiobacillus*, Medio Starkey, Medio no autótrofo para *Thiobacillus* no acidificantes (8).

Medio para especies acidificantes de *Thiobacillus*

Sales basales:

Cloruro de amonio	
NH_4Cl	0.1 gr
Fosfato monopotásico	
K_2HPO_4	3gr
Cloruro de magnesio	
$MgCl \cdot 6H_2O$	0.10 gr
Cloruro de calcio	
$CaCl$	0.10 gr
Hiposulfito de sodio $5H_2O$	
.....	5gr o azufre 10 gr
Agua destilada	
H_2O	1000 ml.

- 1) Ajustar a pH 4.2
- 2) En el caso del hiposulfito realizar tinalización (100 °C durante 30 min) tres días seguidos.
- 3) En el caso del azufre esterilizar en el autoclave 121 °C, durante 20 min.

Medio Starkey

Sales basales:

Sulfato de amonio NH_4SO_4	0.2 gr
Sulfato de magnesio $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5 gr
Fosfato de potasio KH_2PO_4	3.0 gr
Cloruro de calcio CaCl_2	0.25 gr
Sulfato ferroso FeSO_4	0.01 gr
Azufre S°	10 gr
Agua destilada H_2O	1000 ml

- 1) Disolver las sales basales en agua destilada excepto el azufre. Ajustar a 4.5 el pH
- 2) Esterilizar a 121 °C 15 min.

Medio no autótrofo para *Thiobacillus* no acidificantes

Sales basales:

Fosfato de potasio KH_2PO_4	4 gr
Fosfato de potasio monobásico K_2HPO_4	4 gr
Sulfato de magnesio $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.1 gr
Cloruro de calcio CaCl_2	0.1 gr
Sulfato de amonio NH_4SO_4	0.1 gr
Cloruro férrico $\text{Fe}_3\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.02 gr
Sulfato de manganeso $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.02 gr
Hiposulfito de sodio	10 gr
Agua destilada H_2O	1000 ml.

- 1) Ajustar a 6.6 el pH
- 2) Esterilizar por el medio de tinalización tres días seguidos (100 °C 30 min)

3.8 Fenómenos, factores y mecanismos de la corrosión

3.8.1 Fenómenos de la corrosión microbiológica:

La corrosión microbiológica puede ser representada por los siguientes fenómenos (25, 4):

- 1) Producción de metabolitos ácidos orgánicos y/o inorgánicos.
- 2) Corrosión debida a celdas de aireación diferencial. Estas celdas se presentan cuando el metal recibe más oxígeno en unas zonas, causando la oxidación en las zonas menos aireadas. Los microorganismos forman colonias que se depositan sobre el metal, de manera que la parte de este queda debajo de dichas colonias recibiendo menos oxígeno y por lo tanto se corroerá .
- 3) Destrucción de cubiertas protectoras del metal, que son metabolizadas por los microorganismos.
- 4) Consumen sustancias inhibidoras de la corrosión y facilitando de esa forma la acción de los iones agresivos presentes en el medio o producidos por el metabolismo microbiano.

3.8.2 Factores que influyen en la corrosión microbiana.

En general se dice que los factores son de tres tipos:

- 1) El estado en el que se encuentra el material.
- 2) La influencia del medio (temperatura, pH, luz, composición química del agua)
- 3) La acción de los microorganismos.

3.8.3 Mecanismos de la corrosión microbiana.

Se piensa que la forma en que las BSR intervienen en la corrosión, es mediante los siguientes tres mecanismos de corrosión (34):

- 1) Producción de celdas de concentración de oxígeno: Se dice que el oxígeno es un excelente depolarizador catódico. Sin embargo, muchos factores influyen en su actividad tales como su concentración, velocidad de flujo de agua, otros iones presentes, pH y el aprovechamiento del oxígeno en el cátodo.

Este mecanismo no es único de las BSR sino que cualquier especie o población mixta de bacterias, algas u otro crecimiento bacteriano que tienda a producir capas no conductoras en la superficie del metal, pueden acelerar o incrementar la corrosión.

Los microorganismos formadores de sedimentos tales como las bacterias del hierro: *Crenothrix* y *Gallionella*; bacterias heterótroficas como *Thiobacillus* y otros además de las BSR son capaces de crecer en superficies sumergidas, secretando un material mucilaginoso. Una vez establecidos, incrementan en tamaño y cantidad por su propio crecimiento mediante la capacitación y absorción de sólidos suspendidos en el agua (67, 68).

Generalmente, la superficie de la masa de escombros de microorganismos es rojiza o de color obscuro debido a la presencia de óxidos e hidróxidos de hierro. La masa en sí puede ser gelatinosa, viscosa o dura y quebradiza especialmente si están presentes depósitos de carbonatos y sulfatos. El área debajo de la masa donde ocurre la pérdida del metal, puede ser rojiza u oscura, pero más frecuentemente es grisácea o negra. El material que más frecuentemente se encuentra en el sistema es el óxido férrico (FeO_3), de color negro y que es magnético y puede distinguirse del sulfuro de fierro por solubilización con ácido o por pruebas con un magneto. El sulfuro de fierro produce sulfuro de hidrógeno después de la adición de un ácido y no es afectado por un magneto como lo es el óxido de hierro (67, 68).

2) Depolarización catódica (34, 15): Las BSR son también muy activas promoviendo y acelerando la corrosión de sistemas de oxígeno o bien en sistemas que llevan agua conteniendo oxígeno y microorganismos que formen sedimentos que constituyan una capa tan espesa y densa que no pueda penetrar el oxígeno.

La forma en que las bacterias llevan a cabo su corrosión es en un medio anaeróbico que puede ser explicado por la teoría de Despolarización Catódica propuesta por Von Wolzongue Kuhr y Von Der Viugt utilizando para su descripción un sistema que es muy común encontrarlo en la inyección del agua para la recuperación secundaria, formado por una tubería de hierro en contacto íntimo con un flujo de agua que contiene sales en solución y además las BSR (71, 26)

Cuando la corrosión ocurre, el fierro metálico en el ánodo pierde dos electrones y estos fluyen del metal de la tubería al cátodo. Los átomos de fierro, al perder electrones en el ánodo, se convierten en iones de fierro y entran al agua como partículas solubles de fierro cargadas positivamente:

El cátodo cargado negativamente, atrapa iones hidrógeno (H^+) que provienen de la disolución o ionización del agua:

En el cátodo los iones hidrógeno aceptan electrones y se convierten en átomos del hidrógeno.

3) Producción de metabolitos. Las bacterias sulfo-ferrosas producen metabolitos ácidos o sales insolubles que pueden generar corrosión o incrustaciones en tuberías y equipos industriales diversos. (7, 34).

La actividad biológica de estas bacterias puede influir en la corrosión en una gran variedad de medios incluyendo suelos, aguas dulces, aguas saladas, productos naturales del petróleo, etc.

La corrosión de las estatuas de piedra fijas en las zonas de contaminación, y en los templos en áreas tropicales, se produce por el H_2S y H_2SO_4 que es producido (40).

Los hongos producen daños debido a la actividad enzimática. Secretan numerosos ácidos orgánicos en el medio (34, 15). Igualmente las algas secretan enzimas que atacan numerosos sustratos como madera, papel, metal, etc., y que pueden así mismo metabolizar sustancias ácidas corrosivas (25).

Algunas especies se asocian para recibir mutuos beneficios; otras están en competencia constante por los alimentos y los lugares convenientes para procrearse. Algunos tipos evitan la competencia activa y prefieren desarrollarse en relativo aislamiento (53, 62).

Haciendo caso omiso de su origen, nombre y conexiones familiares, todos los microorganismos crecen, proliferan y se desarrollan a expensas de los nutrientes orgánicos e inorgánicos (53, 62).

Capítulo 4

Métodos, Material

y

Reactivos

4. Métodos, material y reactivos.

4.1 Cepas

Cepas utilizadas para la realización de este trabajo :

1) *Thiobacillus ferrooxidans*. Proporcionada por la Escuela de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, departamento de Microbiología agrícola.

2) Bacterias Sulfato Reductoras (BSR). Proporcionadas por el Instituto Mexicano del Petróleo, departamento de corrosión.

4.1.1 Equipo

- * Autoclave digital (AMSCO).
- * Balanza analítica (Mettler H78AR).
- * Balanza granataria (Ohaus).
- * Estufa (Lab line).
- * Refrigerador (Nixco)
- * Microscopio de campo claro (American Optical One-Ten Micro Star).
- * Potenciómetro (Conductronic)
- * Agitador (Curtin Mathenson scientific Inc.).
- * Campanas (Durham).

4.1.2 Material

- * Algodón
- * Asas bacteriológicas
- * Buretas (100, 50, 25 ml.)
- * Cajas de petri desechables (100 * 15 mm)
- * Clavos
- * Charola de tinción.
- * Espátulas
- * Embudo de 7.5 cm de diámetro.
- * Filtros milipore (22 micras)
- * Frascos goteros color ámbar.
- * Goteros
- * Gradillas metálicas
- * Maskin Type
- * Matraces Bola de fondo plano (500 y 1000 ml.)
- * Matraces Erlenmeyer (500 y 250 ml.)
- * Mecheros

- *Mortero y pistilo
- *Parafilm "M"
- *Papel aluminio
- *Papel pH
- *Papel Whatman No 5, de 12.5 cm de diámetro
- *Pinzas de tres dedos
- *Pipetas (1, 5 y 10 ml)
- *Portaobjetos
- *Probetas (50, 200 y 500 ml.)
- *Puente de tinción
- *Soporte Universal
- *Tubos de ensayo con tapón rosca de 13 * 100 mm.

4.1.3 Reactivos

- *Alcohol etílico al 95%, 50%
- *Aceite de inmersión
- *Acido sulfúrico concentrado
- *Acido clorhídrico concentrado
- *Sal disódica del ácido etilendiaminocético(EDTA)
- *Indicador de Ericromo Negro T
- *Solución reguladora para la dureza (Estable por 2 meses)
- *Cianuro de Potasio (Q.P) Químicamente puro
- *Clorhidrato de hidroxilamina
- *Tartrato de sodio
- *Sulfuro de sodio ($\text{Na}_2\text{S}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$)
- *Indicador cromato de potasio
- *Solución de hidróxido de sodio 0.02 N
- *Solución de ácido sulfúrico 0.02 N
- *Indicador de fenolftaleína
- *Acido sulfúrico 0.02 N
- *Anaranjado de Metilo (indicador)
- *Fenolftaleína (indicador)
- *Tiosulfato de sodio 0.1N
- *Solución de yodo 0.025 N
- *Acido acético concentrado Q.P (glacial)
- *Solución de tiosulfato de sodio 0.025 N
- *Indicador de almidón.

4.2. Soluciones y reactivos preparados

*Alcohol acetona para tinción de gram.- Mezclar 90 ml. de alcohol etílico absoluto con 30 ml de acetona.

*Solución yodada para tinción de gram.- 1gr. de yodo, 2 gr. de yoduro de potasio y 300 ml de agua destilada

*Cristal violeta para tinción de Gram.- Pesar 0.5 gr. de cristal violeta y disolver en 100 ml de etanol al 95%

*Lugol para tinción de Gram.- Disolver 1 gr. de yodo y 2 gr. de yoduro de potasio en 100 ml de agua destilada.

*Safranina para tinción de Gram.- Disolver 0.5 gr. de safranina en 20 ml. de agua destilada y aforar a 100 ml.

*Alcohol etílico.- 70 ml de etanol en 100 ml de agua destilada.

*BaCl₂ 5%.- Pesar 5 gr de cloruro de bario y disolver en 100 ml de agua destilada.

*Fenolftaleína (indicador para la alcalinidad a la fenolftaleína).- Disolver 1 gr de la sal de fenolftaleína en solución al 50% de alcohol etílico; aforar a un 100 ml con agua destilada.

*Anaranjado de metilo (indicador para alcalinidad total) .- Disolver 0.1 gr de la sal de anaranjado de metilo en agua destilada y aforar a 100 ml.

*Acido sulfúrico 0.02N (Determinación de alcalinidad a la fenolftaleína y dureza total).- Disolver 1.6278 ml de ácido sulfúrico concentrado en un pequeño volúmen y aforar a tres litros. Titular esta solución contra una solución estándar de carbonato de sodio 0.02 N.

*Eriocromo negro T (Indicador para la dureza total).- Mezclar un gramo de la sal del indicador, eriocromo negro T, con 100 gramos de cloruro de sodio (NaCl). Este cloruro de sodio debe contener consistencia de polvo (Puede obtenerse esta consistencia con ayuda del mortero).

*Murexide o purpurato de amonio (Indicador para la determinación de calcio).- Mezclar 1.0 gr de la sal de murexide (C₈H₈N₆O₆) con 100 gr de cloruro de sodio con consistencia de polvo.

*Solución reguladora (determinación de dureza total).- Disolver 67.5 gr de cloruro de amonio en agua destilada (200 ml aproximadamente); ya que la sal este disuelta agregar 570 ml. de hidróxido de amonio (NH₄OH) concentrado, y aforar a 1000 ml con agua destilada.

*Sal disódica del ácido etilendiamintetracético (EDTA) 1ml = 1 mg CaCO_3 (Determinación de dureza total y calcio).- Pesar exactamente 12 gramos de EDTA y disolver en aproximadamente 500 ml. de agua destilada. Agregar 2.58 gr de sosa (NaOH) en escamas, y una pequeña cantidad de cloruro de magnesio (MgCl_2). Esperar a que se disuelva y aforar a 2.5 lt. Titular contra una solución estándar de cloruro de calcio (CaCl_2), 1ml = 1 mg CaCO_3 .

*Indicador de almidón.- Hacer una pasta muy fina de aproximadamente 2 gr de almidón Q.P. con agua fría. Vaciar 200 ml de agua destilada en ebullición y agitar. Cuando se enfríe, agréguese unas gotas de cloroformo.

* Hidróxido de sodio.- 4.1gr. de hidróxido de sodio disolverlos en 10 ml de agua destilada aforar a 100 ml con agua destilada

Metodologías

4.4. Toma de muestras

1) Se seleccionaron industrias chicas, medianas y grandes, al azar y en diferentes zonas del área Metropolitana de la Ciudad de México y Refinerías.

2) Se tomo una muestra de agua en cada industria de: caldera, torre de enfriamiento; circuito y procesos, hasta reunir 100 muestras.

4.4.1. Tamaño de la muestra

La determinación del tamaño de la muestra es muy importante, ya que si tomamos una muestra muy pequeña esta no sería representativa o muy grande se estarían desperdiciando recursos.

Para determinar el número de muestras que se tomarán y que, además, sean significativas, se emplea el método estadístico de los intervalos de confianza para la proporción.

Tomando en cuenta que en todo procedimiento existe un error máximo de estimación, y considerando que el muestreo es aleatorio y sin reemplazo, entonces el error máximo de estimación esta dado por la fórmula:

$$E = Z_{1-\alpha/2} \sqrt{pq/n} \quad N-n/N-1$$

Despejando n:

$$E^2 = Z_{1-\alpha/2}^2 pq(N-n)/n(N-1)$$

$$n(E^2 n(N-1) + Z_{1-\alpha/2}^2 pq) = NZ_{1-\alpha/2}^2 pq$$

La fórmula estadística para determinar el número de muestras a analizar es:

$$n = \frac{NZ_{1-\alpha/2}^2 pq}{E^2 (N-1) + Z_{1-\alpha/2}^2 pq}$$

Donde:

N= Número de industrias

E= Error máximo de estimación

p= Éxito

q= Fracaso

 $Z_{1-\alpha/2}$ = Valor crítico

n= Número de muestras

Sustituyendo

n= número de muestras

* N = 6200

E = 9 % = 0.09

q = 31 % = 0.31

** $Z_{1-\alpha/2}$ = 1.96

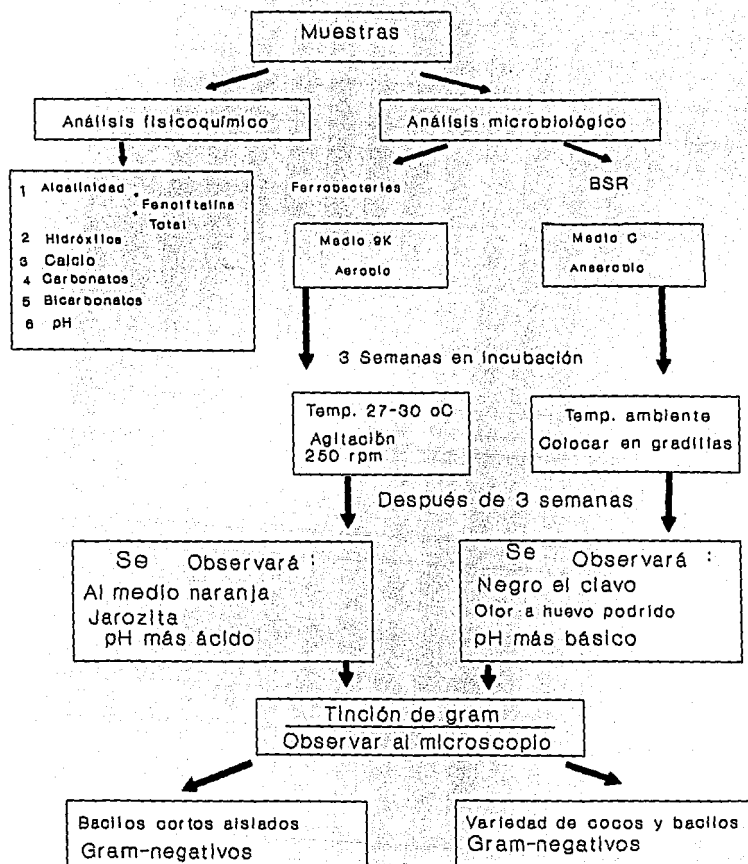
p = 69 % = 0.69

** Valores ya establecidos en tablas estadísticas

* Número total de industrias

$$n = \frac{(6200)(1.96)^2(0.69)(0.31)}{(0.09)^2(6200-1) + (1.96)^2(0.69)(0.31)} = \frac{5094.6531}{51.034} = 100 \text{ muestras}$$

4.3 Metodología



Procedimiento

- a) Recoger 250 ml de una muestra de agua en frascos estériles de boca amplia de 250 ml, etiquetados con número de muestra, hora, fecha y sitio de recolección.
- b) Conservar en refrigeración
- c) Realizar las pruebas fisicoquímicas correspondientes.
- d) Inocular los medios que se hayan seleccionados para el aislamiento de bacterias corrosivas.

4.5. Procedimiento para la inoculación de medios.

4.5.1. Medio para bacterias aerobias (Medio 9K)

- 1) En tubos del 150 x 15 mm con tapa rosca, colocar 9 ml de medio líquido 9K
- 2) Marcar cada tubo con fecha del día en el que se inoculo, día en el que se leerán las muestras inoculadas (después de 3 semanas), lugar y número de muestra
- 3) Inocular cada tubo con 1 ml de muestra
- 4) Colocar los tubos a una agitación de 250 rpm con una temperatura entre 27- 30 °C a temperatura ambiente. Durante 3 semanas.

4.5.2 Medio para bacterias anaerobias (BSR)

- 1) En tubos de 100 x 130 mm colocar 7.0 ml de medio líquido C
- 2) Colocar posteriormente 1 clavo pequeño, previamente flameado.
- 3) Marcar cada tubo con fecha de entrada y el día en el que se leerán, lugar y número de muestra
- 4) Inocular cada tubo con 2 ml de muestra, de manera que se llene todo el tubo, ya que esto es un requisito para hacer un medio anaerobio.
- 5) Colocar en gradillas durante 3 semanas a temperatura ambiente.

4.6 Identificación de bacterias

4.6.1 Identificación de Sulfobacterias.

- 1) El medio 9k inoculado deberá tornarse de un color verde translúcido a una coloración amarillenta o naranja(12)
- 2) Hay formación de un precipitado amarillo en el fondo del tubo, debido a la oxidación del hierro (jarozita) (12).
- 3) En las paredes del tubo se forma una película naranja o amarillenta difícil de remover (22, 82)
- 4) A través del microscopio se observan bacilos cortos aislados o en pares gram negativos
- 5) El pH del medio tiende a hacerse más ácido o bien se mantiene a 2.5 (20).

4.6.2 Identificación de la BSR.

- 1) El medio C presenta partículas negras suspendidas e incrustadas en el clavo (23, 79)
- 2) Al destapar el tubo se desprenderá un olor a huevo podrido, debido a la formación de H_2S (79, 75)
- 3) Al microscopio se observan cocos y bacilos curvos, alargados o rectos aislados gram-negativos (8).
- 4) El pH por lo regular tiende a hacerse más básico o se mantiene en 7.0 (15, 8).

4.7. Técnicas de estudio

Después de haber hecho los cultivos y dejar las muestras en incubación durante 3 semanas, conviene entonces realizar un análisis al microscopio con objeto de tener la certeza de que se tratan del grupo de bacterias que se están estudiando.

4.7.1 Preparación de las láminas

Debido a que la preparación de frotis de este tipo de bacterias es un poco complicado, ya que estas no se tienden a fijar con facilidad a la lámina deberá procederse de la siguiente manera (49). Las láminas utilizadas para los exámenes microscópicos deben encontrarse absolutamente limpias y sin grasa.

4.7.2 * Para la preparación de los frotis de las ferrobacterias se procede de la siguiente manera:

- 1) Se coloca una gota de agua destilada sobre la lámina
- 2) Se deja el tubo en posición vertical evitando que se agite
- 3) Se toma una asada de la superficie del líquido y otra de las paredes.
- 4) Se coloca la muestra sobre la gota de agua
- 5) Se repite el procedimiento número tres , por lo menos 3 veces
- 6) Se fija al mechero
- 7) Se procede con el método normal de la coloración de Gram: Cristal violeta y dejar 1 minuto y lavar con agua destilada, posteriormente colocar unas gotas de lugol 1 minuto y después lavar, luego colocar unas gotas de la mezcla de alcohol acetona 10 segundos y lavar, finalmente colocar safranina 30 segundos y lavar.
- 6) Se deja secar al aire libre
- 7) Se procede a observar al microscópio

4.7.3 * Para la preparación de láminas de las BSR, se debe de proceder como sigue:

- 1) Se toma el clavo y se raspa con el asa bacteriológica .
- 2) Se coloca la muestra sobre una gota de agua en la laminilla
- 3) Se repite esta operación por lo menos 3 veces
- 4) Se fija en el mechero
- 5) Se hace la coloración de Gram
- 6) Se deja secar al aire libre
- 7) Se observa al microscópio

Las observaciones que se hagan al microscópio deben corresponder a la bibliografía consultada.

4.8. Técnicas para pruebas fisicoquímicas (26).

Debido a que se determinan diversos constituyentes en un análisis de agua, varios de éstos se reportan en una unidad común de peso, es decir referido a la unidad de peso de otra sustancia que es el carbonato de calcio (CaCO_3). Cuando los constituyentes se reportan en esta manera se pueden sumar o restar directamente, sin necesidad de hacer conversiones a las equivalencias.

En el análisis del agua es necesario determinar la presencia de estas sustancias, las cuales se encuentran en cantidades extremadamente pequeñas, es por esta razón que el resultado de un análisis de agua se expresa en partes por millón (p.p.m) en vez de expresarlo en porcentaje.

Para llevar a cabo el análisis fisicoquímico de las cien muestras de aguas, se seleccionaron las siguientes pruebas fisicoquímicas al azar, ya que son numerosas las pruebas fisicoquímicas que existen y esto sería muy laborioso, por lo que solo se seleccionaron 8 tipo de pruebas fisicoquímicas para la elaboración del presente estudio.

4.8.1 Dureza Total.

Procedimiento

Medir 10 ml de la muestra y colocar en el frasco erlenmeyer de 25 ml. , agregar 10 gotas de la solución reguladora de cloruro de amonio y una pequeña cantidad de ericromo negro T. Si no hay dureza presente la muestra tomará un color azul claro.

Si hay dureza tomará un color rojo vino, en cuyo caso se titula con la solución de versenato, hasta el vire de color rojo a azul franco. Luego se adiciona 25 ml. más de la muestra y se termina la titulación. El punto final de la titulación es de color azul total.

Cálculos

Dureza total = ml. de EDTA X 20 = ppm en CaCO_3

4.8.2 Alcalinidad total y alcalinidad a la fenolftaleína

Procedimiento

Se coloca 50 ml de la muestra en un matraz erlenmeyer de 250 ml, se agregan 2 gotas de indicador de fenolftaleína, si el color de la muestra no cambia, se anota cero a la alcalinidad a la fenolftaleína, si cambia a un color rosa, titular cuidadosamente con ácido sulfúrico 0.02N hasta una decoloración total, que corresponde al punto de vire

de la fenolftaleína, pH 8.33. Se anotan los ml gastados de ácido sulfúrico. A continuación a la misma muestra, se agregan 2 gotas de indicador anaranjado de metilo y se titula, hasta un pH de 4.6, que corresponde a un vire canela o naranja pálido, punto de vire del indicador anaranjado de metilo.

Los mililitros gastados para el vire a la fenolftaleína, más los empleados para obtener la coloración canela del indicador anaranjado de metilo, dan el gasto total de ácido sulfúrico para valorar la alcalinidad total.

Cálculos

Alcalinidad a la fenolftaleína en ppm de $\text{CaCO}_3 = \text{ml de ácido sulfúrico } 0.02 \text{ N} \times 20$

Alcalinidad total en ppm de $\text{CaCO}_3 = \text{ml de ácido sulfúrico } 0.02 \text{ N} \times 20$

Estos cálculos son necesarios para calcular la cantidad en ppm de Carbonato y Bicarbonato. Para ello se ha establecido una tabla la cual se basa en la cantidad en ppm de Alcalinidad a la fenolftaleína y Alcalinidad total que contiene la muestra, dependiendo si estas cantidades son mayores o menores, se obtiene la cantidad de Carbonatos y bicarbonatos

4.8.3 Carbonatos y Bicarbonatos

Cálculos

Resultado de la Titulación	Alcalinidad de Hidróxidos en ppm de CaCO_3	Alcalinidad de carbonatos en ppm de CaCO_3
F = 0	0	0
F < 1/2 M	0	2 F
F = 1/2 M	0	2 F
F > 1/2 M	2F-M	2 (M-F)
F = M	M	0

Resultados de la Titulación	Alcalinidad de Bicarbonatos en ppm de CaCO_3
F=0	M
F<1/2M	M-2F
F=1/2M	0
F>1/2M	0
F=M	0

F= Alcalinidad a la fenolftaleína

M=Alcalinidad total.

4.8.4 Calcio**Procedimiento**

A 100 ml de la muestra se le agregan 15 gotas de hidróxido de sodio al 4% y una pequeña cantidad de murexide. Después se titula con EDTA hasta que la muestra adquiera un color violeta.

Cálculos

$$\text{Calcio} = \text{ml. de EDTA} \times 100 = \text{ppm de CaCO}_3$$

4.8.5 Hidróxilos**Cálculos**

Resultados de la
Titulación

Alcalinidad de hidróxilos
en ppm de CaCO₃

F=0

0

F<1/2M

0

F=1/2M

0

F>1/2M

2F - M

F=M

M

F= Alcalinidad a la fenolftaleína

M=Alcalinidad total.

Capítulo 5

Resultados

y

Análisis de resultados

Resultados

En las siguientes tablas 1, 2, 3 y 4, se presentan los resultados del análisis fisicoquímico y microbiológico de las 100 muestras de agua de uso industrial en el área metropolitana de la Ciudad de México y Refinerías, esto es, en calderas, torres de enfriamiento, circuitos y procesos.

Los medios en los que se aislaron este tipo de bacterias corrosivas fueron: el medio 9K, para las bacterias aerobias, y medio C, para las bacterias anaerobias. Estos medios (9K y C), comparados con otros 2 medios diferentes (Medio A y Starkey), resultaron ser los más eficientes, fáciles de preparar y proporcionaban una mayor visibilidad en cuanto si la prueba era o no positiva.

Nota: Todos los resultados están expresados en ppm de CaCO_3

M. calderas	A/F	A/T	OH	CO ₃	HCO ₃	D/T	pH	Ca	9K	C	pH C	pH 9K
1	20	220	0	40	180	7.3	120	80	(+)	(+)	2.0	8.0
2	90	440	0	180	280	9.7	0	0	(+)	(+)	1.9	7.5
3	50	250	0	100	150	7.8	1110	670	(-)	(+)	2.5	8.2
4	50	300	0	100	200	7.8	1150	700	(+)	(+)	2.4	8.3
5	30	140	0	60	80	7.6	270	100	(+)	(+)	1.9	7.6
6	0	70	0	0	70	8.2	120	50	(-)	(-)	2.5	7.6
7	0	120	0	0	120	8.0	120	60	(-)	(+)	2.4	8.5
8	0	100	0	0	100	8.4	0	0	(-)	(+)	2.0	7.0
9	40	290	0	80	210	7.7	350	170	(-)	(-)	2.5	7.5
10	50	300	0	100	200	8.1	400	190	(-)	(-)	2.5	7.5
11	80	380	0	180	220	7.9	850	350	(-)	(-)	2.6	7.5
12	60	340	0	120	220	7.6	880	400	(-)	(-)	2.5	7.5
13	2100	2750	1450	1300	0	12.6	0	0	(-)	(-)	2.0	7.5
14	1110	1810	410	1400	0	12.1	0	20	(-)	(-)	1.9	7.4
15	860	1100	620	1720	0	11.6	0	0	(-)	(-)	2.5	7.5
16	16	26	6	32	0	10.3	0	10	(-)	(+)	2	8.3
17	1000	1250	750	500	0	12.0	0	0	(-)	(-)	2.3	7.7
18	240	920	0	480	440	11.1	0	0	(-)	(-)	2.3	7.5
19	300	920	0	600	320	11.2	0	0	(-)	(-)	1.9	8
20	470	1050	0	940	110	11.3	0	0	(-)	(-)	2.3	8.0
21	200	640	0	400	240	11.0	0	0	(-)	(-)	2.5	9
22	0	620	0	0	620	10.6	0	0	(-)	(-)	1.8	8
23	990	1870	110	1760	0	11.6	0	0	(-)	(-)	1.9	10
24	30	220	0	80	135	0	8.2	35	(-)	(-)	3.0	6.0
25	30	230	0	80	145	0	8.2	35	(-)	(-)	3.0	7.0

LEYENDA

M. caldera	Muestra de calderas
A/F	Alcalinidad a la fenolftaleína (ppm)
A/T	Alcalinidad Total (ppm)
OH	Hidroxidos (ppm)
HCO ₃	Bicarbonatos (ppm)
CO ₃	Carbonatos (ppm)
D/T	Dureza Total (ppm)
pH	Alcalinidad o acidez inicial
Ca	Calcio (ppm)
9K	Medio 9K
C	Medio C
pH C	pH Final del Medio C
pH 9K	pH Final del Medio 9K

(+) Prueba positiva

(-) Prueba negativa

M. T.E.	A/F	A/T	OH	D/T	CO3	HCO3	pH	Ca	9K	C	pH 9K	pH C
26	0	120	0	110	0	120	6.9	60	(+)	(-)	1.5	7.5
27	0	190	0	170	0	190	7.0	20	(+)	(+)	2.0	8.5
28	120	520	0	200	240	280	8.6	100	(-)	(+)	2.5	8.3
29	120	720	0	570	240	480	8.6	100	(-)	(+)	2.5	8.0
30	120	520	0	200	240	280	8.6	100	(-)	(+)	2.5	8.5
31	100	500	0	300	200	300	8.6	100	(-)	(+)	2.5	8.3
32	100	600	0	370	200	400	8.5	100	(+)	(-)	2.1	7.5
33	200	620	0	300	400	220	8.8	140	(+)	(-)	2.0	7.5
34	100	630	0	740	200	430	8.9	200	(-)	(+)	7.0	8.0
35	0	436	0	550	0	436	7.5	200	(-)	(+)	2.5	8.0
36	20	360	0	40	40	320	7.9	100	(+)	(-)	2.3	7.5
37	100	700	0	110	200	500	9.0	90	(-)	(+)	2.5	8.3
38	120	640	0	200	240	400	9.0	30	(-)	(+)	2.5	8.3
39	20	220	0	200	40	180	8.5	50	(-)	(+)	7.5	8.0
40	40	270	0	250	80	190	8.6	30	(+)	(-)	1.9	7.5
41	0	400	0	670	0	400	7.0	200	(-)	(+)	2.3	8.0
42	0	360	0	700	0	360	7.0	200	(-)	(+)	2.3	8.3
43	40	230	0	300	80	150	7.8	70	(-)	(+)	2.5	8.5
44	50	190	0	400	100	90	7.9	70	(-)	(+)	2.5	8.0
45	90	350	0	650	180	170	8.7	160	(+)	(+)	1.9	8.3
46	90	360	0	680	180	180	8.7	170	(+)	(+)	1.6	8.3
47	80	270	0	420	160	110	8.2	90	(-)	(+)	2.6	8.0
48	20	180	0	250	40	140	7.1	30	(+)	(+)	1.0	8.6
49	80	200	0	50	160	40	8.5	20	(+)	(-)	2.4	7.5
50	80	200	0	50	160	40	8.5	20	(+)	(-)	2.5	7.5

ABREVIATURAS

M. T.E.	Muestra de Torres de Enfriamiento
A/F	Alcalinidad a la fenolftaleína (ppm)
A/T	Alcalinidad Total (ppm)
OH	Hidróxidos (ppm)
D/T	Dureza Total (ppm)
HCO3	Bicarbonatos (ppm)
CO3	Carbonatos (ppm)
pH	Acidez o alcalinidad inicial
Ca	Calcio (ppm)
9K	Medio 9K
C	Medio C
pH 9K	pH Final del Medio 9K
pH C	pH Final del Medio C

(+) Prueba positiva

(-) Prueba negativa

M. CIRC	A/F	A/T	OH	CO3	HCO3	D/T	pH	Ca	9K	C	pH C	pH 9K
49	60	160	0	120	40	100	9,3	50	(-)	(+)	7.5	1.5
50	40	220	0	80	140	100	9,4	40	(-)	(+)	8.3	2.0
51	80	200	0	160	40	220	8,8	40	(+)	(+)	8.6	2.5
52	50	225	0	100	125	80	8,9	35	(+)	(+)	7.7	2.5
53	30	225	0	60	165	110	8,3	35	(+)	(-)	7.5	2.3
54	15	175	0	30	145	105	8,3	35	(+)	(-)	7.5	1.7
55	10	185	0	20	165	115	8,4	40	(+)	(+)	8.0	1.5
56	10	150	0	20	130	125	8,4	35	(-)	(+)	7.9	2.0
57	10	175	0	20	155	125	8,4	40	(+)	(+)	8.2	1.8
58	10	200	0	20	180	150	8,3	40	(-)	(-)	7.5	2.0
59	60	405	0	120	285	155	8,7	95	(+)	(+)	8.3	2.5
60	5	105	0	10	95	75	8,3	35	(+)	(-)	7.5	2.3
61	5	95	0	10	85	70	8,2	30	(+)	(-)	7.5	2.0
62	10	155	0	20	135	100	8,4	35	(+)	(+)	8.5	1.9
63	30	210	0	60	150	120	8,6	55	(+)	(+)	8.3	2.5
64	15	195	0	30	165	125	8,4	40	(+)	(+)	8.0	1.5
65	35	200	0	70	130	95	8,8	35	(+)	(+)	7.8	2.5
66	40	215	0	80	135	50	8,9	25	(+)	(+)	8.5	2.5
67	20	200	0	40	160	135	8,3	40	(+)	(-)	7.5	1.7
68	40	240	0	80	160	125	8,6	45	(+)	(+)	8.2	2.5
69	30	205	0	60	145	105	8,6	45	(+)	(+)	8.3	2.5
70	25	230	0	50	180	165	8,4	85	(+)	(+)	7.8	1.8
71	15	235	0	30	205	135	8,3	85	(+)	(-)	7.5	2.0
72	40	195	0	80	115	80	9,0	45	(+)	(+)	8.0	2.5
73	25	220	0	60	150	0	8,3	35	(-)	(+)	3.0	6.0
74	30	220	0	80	135	0	8,2	35	(-)	(-)	3.0	6.0
75	30	230	0	80	145	0	8,2	35	(-)	(-)	3.0	7.0

M. CIRC	Muestra de circuitos
A/F	Alcalinidad a la fenofalaina (ppm)
A/T	Alcalinidad Total (ppm)
OH	Hidroxidos (ppm)
HCO3	Bicarbonatos (ppm)
CO3	Carbonatos (ppm)
D/T	Dureza Total (ppm)
pH	Alcalinidad o acidez inicial
Ca	Calcio (ppm)
9K	Medio 9K
C	Medio C
pH C	pH Final del Medio C
pH 9K	pH Final del Medio 9K

(+) Prueba positiva

(-) Prueba negativa

M. Proceso	A/F	A/T	OH	CO3	HCO3	D/T	pH	Ca	9K	C	pH 9K	pH C
76	30	130	"alta"	60	70	0	7.8	830	(+)	(-)	2.0	7.5
77	20	150	"alta"	40	110	0	8.9	900	(+)	(+)	2.5	8.5
78	30	150	"alta"	60	90	0	8.3	870	(+)	(-)	2.5	7.5
79	30	140	"alta"	60	80	0	8.0	830	(+)	(+)	1.5	8.6
80	20	140	"alta"	40	100	0	7.6	810	(+)	(-)	2.0	7.5
81	20	120	"alta"	40	80	0	7.8	850	(-)	(+)	2.5	8.0
82	20	120	"alta"	40	80	0	7.9	850	(+)	(+)	1.3	8.1
83	50	170	"alta"	100	70	0	7.9	2600	(+)	(+)	1.2	7.9
84	30	150	"alta"	60	90	0	7.9	700	(+)	(-)	1.8	7.5
85	30	150	"alta"	60	90	0	7.9	800	(+)	(+)	2.2	8.0
86	30	150	"alta"	60	90	0	8.0	800	(+)	(+)	1.4	8.0
87	40	180	"alta"	80	100	0	7.9	850	(+)	(+)	1.2	8.2
88	40	140	"alta"	80	60	0	7.9	870	(+)	(+)	1.6	7.5
89	10	410	0	20	390	470	7.5	30	(-)	(+)	2.5	8.0
90	100	800	0	200	600	160	9.0	120	(-)	(+)	2.4	8.0
91	40	400	0	80	320	500	7.3	270	(-)	(-)	2.5	7.5
92	50	480	0	100	380	470	7.6	200	(-)	(+)	2.3	7.5
93	10	160	0	20	140	700	6.8	700	(-)	(-)	2.5	7.5
94	10	130	0	20	110	120	6.8	630	(-)	(-)	2.5	7.5
95	100	410	0	200	210	200	7.5	30	(-)	(+)	2.3	8.0
96	50	400	0	100	300	470	8.0	270	(-)	(+)	2.3	8.0
97	10	160	0	20	140	200	9.0	120	(-)	(+)	2.4	8.0
98	40	130	0	80	50	500	7.5	630	(-)	(-)	2.3	7.5
99	10	800	0	20	780	160	7.8	30	(+)	(+)	2.5	8
100	10	160	0	20	140	700	6.8	700	(-)	(-)	2.5	7.5

Tabla 4. Resultados de los análisis de agua de los procesos

M. Proceso	Muestra de Proceso
A/F	Alcalinidad a la fenolftaleína (ppm)
A/T	Alcalinidad Total (ppm)
OH	Hidróxidos (ppm)
HCO3	Bicarbonatos (ppm)
HCO2	Carbonatos (ppm)
D/T	Dureza Total (ppm)
pH	Acidez o alcalinidad inicial
Ca	Calcio (ppm)
9K	Medio 9K
C	Medio C
pH 9K	pH del medio 9K
pH C	pH del medio C

(+) Prueba positiva

(-) Prueba negativa

Alta Mayor a 2500 ppm

Análisis de resultados

Enseguida, con el uso de la estadística descriptiva se hace la presentación, descripción, resumen y organización de la información numérica.

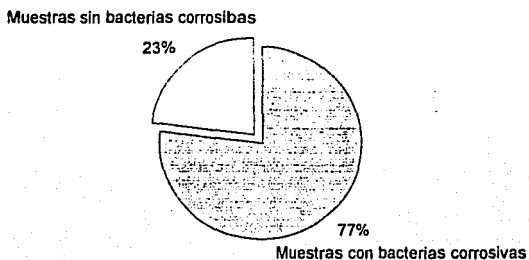
Tabla A

Tipo de muestra	Muestras	Con bacterias corrosivas	Aerobias y anaerobias	Ambos tipos	Sin bacterias corrosivas
	100	77%	61% 78%	37%	23%
Calderas	25	10.38%	4.92% 10.26%	13.51%	73.91%
T. E	25	32.47%	18.03% 23.08%	10.81%	0%
Circuitos	25	31.17%	32.79% 23.08%	37.84%	4.35%
Procesos	25	25.98%	21.31% 20.51%	24.32%	21.74%

Como se observa en la Tabla A, de las 100 muestras analizadas el 25% fueron muestras de agua de caldera, 25% de torres de enfriamiento, 25% de circuitos y 25% de procesos.

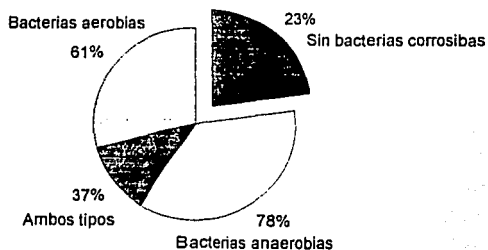
En la siguiente gráfica A se muestra que el 77% de las 100 muestras analizadas, presentaban bacterias corrosivas, (aerobias y/o anaerobias), y un 23% de las 100 muestras, no presentó ningún tipo de bacteria corrosiva.

Gráfica A

Porcentaje general obtenido

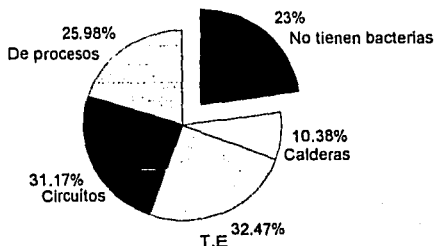
En la siguiente gráfica B, se puede observar que del 77% de muestras positivas 47 fueron aerobias (61%) y 60 anaerobias (78%). Esto sugiere que tanto aerobias como anaerobias pueden ser encontradas en las aguas de uso industrial, pero es mayor en las anaerobias. Lo que indica que puede ser mayor el problema por estas últimas que por las aerobias.

Gráfica B

Porcentaje de aerobias y anaerobias

Gráfica C

Porcentaje de cada tipo de muestra



En la tabla A, muestra que de 25 muestras de agua de caldera, 8 muestras (10.38%) presentaron bacterias corrosivas (Ver gráfica C), de donde 3 presentaron bacterias aerobias (4.92%) y 8 presentaron anaerobias (10.26%), es decir que 5 muestras presentaron ambos tipos de bacterias (13.51%). De todas 17 (73.91%) muestras no presentaron bacterias corrosivas. Lo que demuestra que en aguas de caldera no es tan grave el problema de la corrosión por este tipo de bacterias.

Observando la tabla A, de 25 muestras de torres de enfriamiento las 25 muestras (32.47%) presentaron bacterias corrosivas (ver gráfica C), donde 11 fueron aerobias (18.03%), 18 (23.08%) anaerobias y 4 con ambos tipos de bacterias (10.81%). Indicando así, que en torres de enfriamiento hay mayor probabilidad de corrosión por bacterias corrosivas anaerobias que por las aerobias, sin descartar que también se encuentran y son causantes de la corrosión, aun que en menor porcentaje, estas últimas.

En la tabla A, donde 25 muestras de aguas de circuitos, se observa que 24 presentaron bacterias corrosivas (31.17%, ver gráfica C), de estas últimas 20 con microorganismos aerobios (32.79%), 18 anaerobios (23.08%) y 14 con ambos tipos (37.84%). Y solo 1 (4.35%) fue negativa. En este tipo de muestras de agua se deduce que son un problema en circuitos tanto las bacterias aerobias como anaerobias.

Observando la tabla A, de 25 muestras de aguas de procesos, 20 presentaron bacterias corrosivas (25.98%, ver gráfica C), 13 aerobias (21.31%), 16 anaerobias

(20.51%) y 9 de ambos tipos (24.32%). Y solo 5 muestras (21.74) fueron negativas. Demostrando así, que la corrosión en tuberías de procesos se debe principalmente por ambos tipos de bacterias. Por lo que también son un problema en aguas de procesos.

De todo lo anterior se obtiene que en torres de enfriamiento, circuitos y aguas de procesos presentan mayor cantidad de microorganismos corrosivos, y por tanto mayor problema que en las de calderas, ello puede deberse a las características fisicoquímicas del agua, pues como se observa en la tabla 1 de calderas, algunos de los valores obtenidos son muy extremos, a diferencia de los demás. Concluyendo que el problema de la corrosión en la industria se debe principalmente a bacterias corrosivas y se da en menor grado en calderas.

Para llevar a cabo el análisis estadístico de las pruebas fisicoquímicas analizadas, se agruparon todos los datos numéricos en la tabla 5.

Para determinar en que tipo de aguas se puede desarrollar este tipo de bacterias, se hizo un análisis, para cada una de las pruebas fisicoquímicas, de frecuencias absolutas (fi) e intervalos de clase, junto con una gráfica para visualizar mejor los resultados obtenidos, y así mismo, el efecto que causan las características fisicoquímicas del agua en las bacterias corrosivas.

Muestras	A/F	A/T	OH	CO3	HCO3	D/T	pH	Ca	9K	C	pH 9K	pH C
1	2100	2750	1450	1300	0	0	12.6	0	(-)	(-)	2.0	7.5
2	1110	1810	410	1400	0	0	12.1	20	(-)	(-)	1.9	7.4
3	1000	1250	750	500	0	0	12.0	0	(-)	(-)	2.3	7.7
4	990	1870	110	1760	0	0	11.6	0	(-)	(-)	1.9	10
5	860	1100	620	1720	0	0	11.6	0	(-)	(-)	2.5	7.5
6	470	1050	0	940	110	0	11.3	0	(-)	(-)	2.3	8
7	300	920	0	600	320	0	11.2	0	(-)	(-)	1.9	8
8	240	920	0	480	440	0	11.1	0	(-)	(-)	2.3	7.5
9	200	620	0	400	220	300	8.8	140	(+)	(-)	2.0	7.5
10	200	640	0	400	240	0	11.0	0	(-)	(-)	2.5	9
11	120	720	0	240	480	570	8.6	100	(-)	(+)	2.5	8
12	120	520	0	240	280	200	8.6	100	(-)	(+)	2.5	8.3
13	120	640	0	240	400	200	9.0	30	(-)	(+)	2.5	8.3
14	120	520	0	240	280	200	8.6	100	(-)	(+)	2.5	8.5
15	100	600	0	200	400	370	8.5	100	(+)	(-)	2.1	7.5
16	100	630	0	200	430	740	8.9	200	(+)	(+)	7.0	8
17	100	500	0	200	300	300	8.6	100	(-)	(+)	2.5	8.3
18	100	700	0	200	500	110	9.0	90	(-)	(+)	2.5	8.3
19	100	800	0	200	600	160	9.0	120	(-)	(+)	2.4	8
20	100	410	0	200	210	200	7.5	30	(-)	(+)	2.3	8
21	90	440	0	180	260	0	9.7	0	(+)	(+)	1.9	7.5
22	90	350	0	180	170	650	8.7	160	(+)	(+)	1.9	8.3
23	90	360	0	180	180	680	8.7	170	(+)	(+)	1.6	8.3
24	80	380	0	160	220	850	7.9	350	(-)	(-)	2.6	7.5
25	80	200	0	160	40	50	8.5	20	(+)	(-)	2.4	7.5
26	80	270	0	160	110	420	8.2	90	(-)	(+)	2.6	8
27	80	200	0	160	40	50	8.5	20	(+)	(-)	2.5	7.5
28	80	200	0	160	40	220	8.8	40	(+)	(+)	2.5	8.6
29	60	340	0	120	220	880	7.6	400	(-)	(-)	2.5	7.5
30	60	160	0	120	40	100	9.3	50	(-)	(+)	1.5	7.5
31	60	405	0	120	285	155	8.7	95	(+)	(+)	2.5	8.3
32	50	300	0	100	200	400	8.1	190	(-)	(-)	2.5	7.5
33	50	190	0	100	90	400	7.9	70	(-)	(+)	2.5	8
34	50	250	0	100	150	1110	7.8	670	(-)	(+)	2.5	8.2
35	50	300	0	100	200	1150	7.8	700	(-)	(+)	2.4	8.3
36	50	225	0	100	125	80	8.9	35	(+)	(+)	2.5	7.7
37	50	170	0	100	70	0	7.9	2600	(+)	(+)	1.2	7.9
38	50	480	0	100	380	470	7.6	200	(-)	(+)	2.3	7.5
39	50	400	0	100	300	470	8.0	270	(-)	(+)	2.3	8
40	40	290	0	80	210	350	7.7	170	(-)	(-)	2.5	7.5
41	40	270	0	80	190	250	8.6	30	(+)	(-)	1.9	7.5
42	40	230	0	80	150	300	7.8	70	(-)	(+)	2.5	8.5
43	40	220	0	80	140	100	9.4	40	(-)	(+)	2.0	8.3
44	40	215	0	80	135	50	8.9	25	(+)	(+)	2.5	8.5
45	40	240	0	80	160	125	8.6	45	(+)	(+)	2.5	8.2

Muestras	A/F	A/T	OH	CO3	HCO3	D/T	pH	Ca	9K	C	pH 9K	pH C
46	40	195	0	80	115	80	9.0	45	(+)	(+)	2.5	8
47	40	180	0	80	100	0	7.9	850	(+)	(+)	1.2	8.2
48	40	140	0	80	60	0	7.9	870	(+)	(+)	1.6	7.5
49	40	400	0	80	320	500	7.3	270	(-)	(-)	2.5	7.5
50	40	130	0	80	50	500	7.5	630	(-)	(-)	2.3	7.5
51	35	200	0	70	130	95	8.8	35	(+)	(+)	2.5	7.8
52	30	140	0	60	80	270	7.6	100	(+)	(+)	1.9	7.6
53	30	225	0	60	165	110	8.3	35	(+)	(-)	2.3	7.5
54	30	210	0	60	150	120	8.6	55	(+)	(+)	2.5	8.3
55	30	205	0	60	145	105	8.6	45	(+)	(+)	2.5	8.3
56	30	220	0	80	135	0	8.2	35	(-)	(-)	3	6
57	30	230	0	80	145	0	8.2	35	(-)	(-)	3	7
58	30	130	0	60	70	0	7.8	830	(+)	(-)	2.0	7.5
59	30	150	0	60	90	0	8.3	870	(+)	(-)	2.5	7.5
60	30	140	0	60	80	0	8.0	830	(+)	(+)	1.5	8.6
61	30	150	0	60	90	0	7.9	700	(+)	(-)	1.8	7.5
62	30	150	0	60	90	0	7.9	800	(+)	(+)	2.2	8
63	30	150	0	60	90	0	8.0	800	(+)	(+)	1.4	8
64	25	230	0	50	180	165	8.4	85	(+)	(+)	1.8	7.8
65	25	220	0	60	150	0	8.3	35	(-)	(+)	3	6
66	20	360	0	40	320	40	7.9	100	(+)	(-)	2.3	7.5
67	20	220	0	40	180	120	7.3	80	(+)	(+)	2.0	8
68	20	220	0	40	180	200	8.5	50	(-)	(+)	7.5	8
69	20	180	0	40	140	250	7.1	30	(+)	(+)	1.0	8.8
70	20	200	0	40	160	135	8.3	40	(+)	(-)	1.7	7.5
71	20	150	0	40	110	0	8.9	900	(+)	(+)	2.5	8.5
72	20	140	0	40	100	0	7.6	810	(+)	(-)	2.0	7.5
73	20	120	0	40	80	0	7.8	850	(-)	(+)	2.5	8
74	20	120	0	40	80	0	7.9	850	(+)	(+)	1.3	8.1
75	16	26	6	32	0	0	10.3	10	(-)	(+)	2	8.3
76	15	175	alta	30	145	105	8.3	35	(+)	(-)	1.7	7.5
77	15	195	alta	30	165	125	8.4	40	(+)	(+)	1.5	8
78	15	235	alta	30	205	135	8.3	85	(+)	(-)	2.0	7.5
79	10	185	alta	20	165	115	8.4	40	(+)	(+)	1.5	8
80	10	150	alta	20	130	125	8.4	35	(-)	(+)	2.0	7.9
81	10	175	alta	20	155	125	8.4	40	(+)	(+)	1.8	8.2
82	10	200	alta	20	180	150	8.3	40	(-)	(-)	2.0	7.5
83	10	155	alta	20	135	100	8.4	35	(+)	(+)	1.9	8.5
84	10	410	alta	20	390	470	7.5	30	(-)	(+)	2.5	8
85	10	160	alta	20	140	700	6.8	700	(-)	(-)	2.5	7.5
86	10	130	alta	20	110	120	6.8	630	(-)	(-)	2.5	7.5
87	10	160	alta	20	140	200	9.0	120	(+)	(+)	2.4	8
88	10	800	alta	20	780	160	7.8	30	(+)	(+)	2.5	8
89	10	160	0	20	140	700	6.8	700	(-)	(-)	2.5	7.5
90	5	105	0	10	98	75	8.3	35	(+)	(-)	2.3	7.5

Muestras	A/F	A/T	OH	CO ₃	HCO ₃	D/T	pH	Ca	9K	C	pH 9K	pH C
91	5	95	0	10	85	70	8.2	30	(+)	(-)	2.0	7.8
92	0	100	0	0	100	0	8.4	0	(-)	(+)	2.0	7
93	0	120	0	0	120	110	6.9	60	(+)	(-)	1.5	7.5
94	0	70	0	0	70	120	8.2	50	(-)	(-)	2.5	7.6
95	0	620	0	0	620	0	10.6	0	(-)	(-)	1.8	8
96	0	436	0	0	4365	550	7.5	200	(-)	(+)	2.5	8
97	0	400	0	0	400	670	7.0	200	(-)	(+)	2.3	8
98	0	360	0	0	360	700	7.0	200	(-)	(+)	2.3	8.3
99	0	120	0	0	120	120	8.0	60	(-)	(+)	2.4	8.5
100	0	190	0	0	190	170	7.0	20	(+)	(+)	2.0	8.5

ABREVIATURAS

- A/F Alcalinidad a la fenolftaleína en ppm de CaCO₃
 A/T Alcalinidad total en ppm de CaCO₃
 OH Hidroxilos en ppm de CaCO₃
 HCO₃ Bicarbonatos en ppm de CaCO₃
 CO₃ Carbonatos en ppm de CaCO₃
 pH Acidez o alcalinidad en la muestra
 D/T Dureza total en ppm de CaCO₃
 Ca Calcio en ppm de CaCO₃
 pH 9K pH final del medio 9K inoculado
 pH C pH final del medio C inoculado
 (+) Prueba positiva
 (-) Prueba negativa

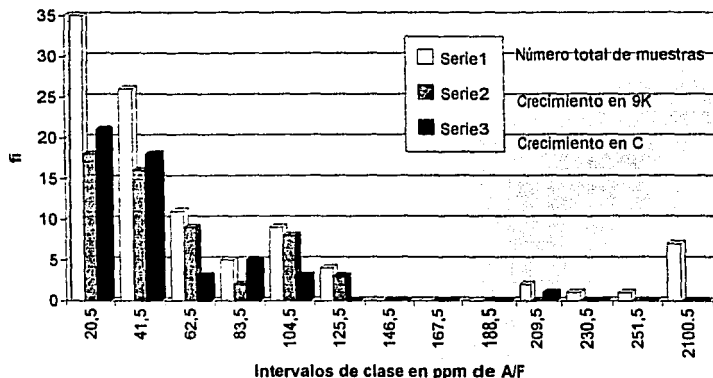
En la tabla de la derecha se muestran los intervalos de clase de la A/F, las frecuencias (fi) respectivas de cada intervalo, así como el número de muestras que resultaron positivas y negativas en su crecimiento bacteriano.

Graficando intervalos de clase en ppm de A/F contra frecuencias se obtiene la gráfica 1 de A/F. Donde se puede observar que el mayor número de muestras (72%) se encuentran en intervalos de 0 a 62 ppm de A/F, es decir que el 77% presenta bacterias aerobias y 82% anaerobia, lo cual indica que aguas con A/F de 0 a 62 ppm tienen más probabilidad de presentar o desarrollar este tipo de bacterias. Indicando que es más probable de presentar bacterias aerobias que anaerobias. También se observa en la gráfica que a mayor alcalinidad, pocas son las muestras a esos intervalos, y de igual forma disminuye la probabilidad de la presencia de microorganismos corrosivos.

Intervalos de clase	fi	9K	C	9K	C
		(+)	(+)	(-)	(-)
A/F					
0	20	35	18	21	17
21	41	26	16	18	10
42	62	11	9	3	2
63	83	5	2	5	3
84	104	9	8	3	1
105	125	4	3	0	1
126	146	0	0	0	0
147	167	0	0	0	0
168	188	0	0	0	0
189	209	2	0	1	2
210	230	0	0	0	0
231	250	1	0	0	1
251	2100	7	0	0	7
			56	51	44
					49

Gráfica 1

Alcalinidad a la fenolftaleína (A/F)



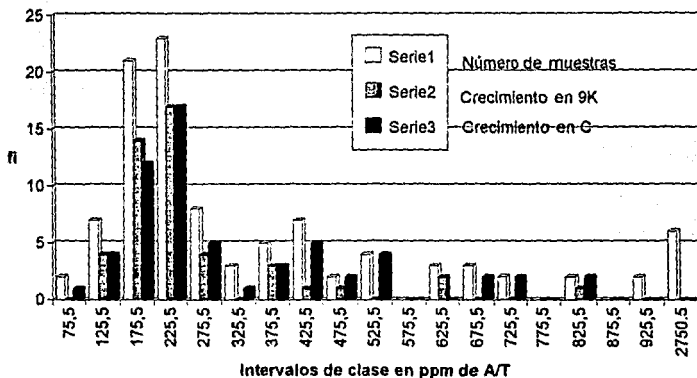
En la tabla de la derecha se muestran los intervalos de clases de la A/T en ppm, las frecuencias (fi) respectivas de cada intervalo, así como el número de muestras que resultaron positivas y negativas en su crecimiento bacteriano.

Graficando intervalos de clase en ppm de A/T contra frecuencias (fi) se obtiene en la gráfica 2 de A/T. Donde se puede observar que la mayoría de las muestras (59%) se encuentran en intervalos de 76 a 275 ppm de A/T, esto es el 82% son aerobias y 70% anaerobias. Indicando que es mayor la probabilidad de encontrar bacterias aerobias que anaerobias en este intervalo. Así muestras con 76 a 275 ppm de A/T, presentan una mayor probabilidad de presentar bacterias corrosivas. Se muestra en la gráfica que a mayor A/T menor número de muestras y menor presencia de bacterias.

Intervalos de clase		fi	9K (+)	C (+)	9K (-)	C (-)
A/T						
25	75	2	0	1	2	0
76	125	7	4	4	3	4
126	175	21	14	12	7	9
176	225	23	17	17	6	6
226	275	8	4	5	4	3
276	325	3	0	1	3	2
326	375	5	3	3	2	2
376	425	7	1	5	6	2
426	475	2	1	2	1	0
476	525	4	0	4	4	0
526	575	0	0	0	0	0
576	625	3	2	0	1	3
626	675	3	0	2	3	1
676	725	2	0	2	2	0
726	775	0	0	0	0	0
776	825	2	1	2	1	0
826	875	0	0	0	0	0
876	925	2	0	0	2	2
926	2750	6	0	0	6	6
			47	60	53	40

Gráfica 2

Alcalinidad Total (A/T)



En la tabla de la derecha se muestran los intervalos de clase de HCO_3 en ppm, las frecuencias (fi) respectivas de cada valor, así como el número de muestras que resultaron positivas y negativas en su crecimiento bacteriano.

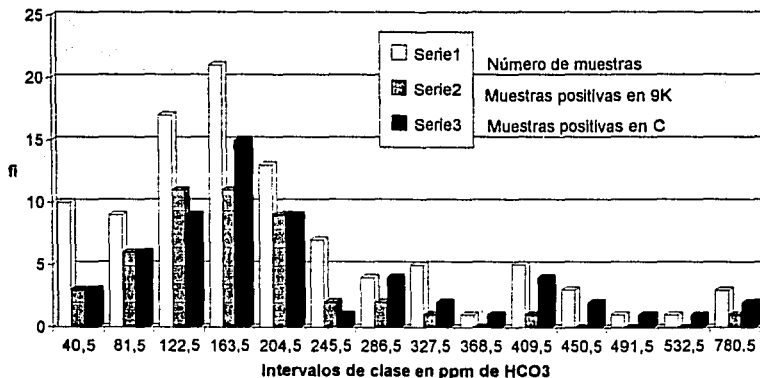
Graficando intervalos de clase en ---- ppm de HCO_3 contra fi se obtiene la gráfica 3 de HCO_3 , donde se observa que la mayor parte de las muestras (70%) de agua caen dentro de los rangos 0 a 204 ppm de HCO_3 , 79% aerobias y 70% anaerobias. Y mientras mayor sea el valor de HCO_3 la cantidad de bacterias disminuye.

Así muestras de aguas entre 0 a 204 ppm de HCO_3 , pueden presentar bacterias corrosivas. Indicando que es un poco mayor la probabilidad de presentar bacterias aerobias que anaerobias en este intervalo.

Intervalos de clase		fi	9K	C	9K	C
HCO ₃			(+)	(+)	(-)	(-)
0	40	10	3	3	7	7
41	81	9	6	6	3	3
82	122	17	11	9	6	8
123	163	21	11	15	10	6
164	204	13	9	9	4	4
205	245	7	2	1	5	6
246	286	4	2	4	2	0
287	327	5	1	2	4	3
328	368	1	0	1	1	0
369	409	5	1	4	4	1
410	450	3	0	2	3	1
451	491	1	0	1	1	0
492	532	1	0	1	1	0
533	780	3	1	2	2	1
			47	60	53	40

Gráfica 3

Bicarbonatos (HCO_3)



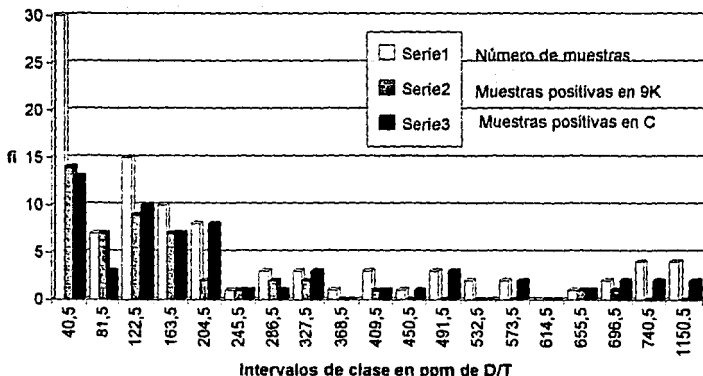
En la tabla de la derecha se muestran los intervalos de clase de D/T en ppm, las frecuencias (fi) respectivas de cada intervalo, así como el número de muestras que resultaron positivas y negativas en su crecimiento bacteriano.

Grificando intervalos de clase en ppm de D/T contra fi se obtiene la gráfica 4 de -- D/T, donde se observa que la mayor parte --- de las muestras (70%) caen dentro del intervalo de 0 a 204 ppm, de las cuales el 82% es aerobio y 70% anaerobio. Indicando que es -- un poco mayor la probabilidad de encontrar -- bacterias aerobias en este intervalo. Y mientras mayor el valor de D/T menor la cantidad de bacterias y menor el número de muestras.

Intervalos de clase		fi	9K	C	9K	C
D/T			(+)	(+)	(-)	(-)
0	40	30	14	13	26	17
41	81	7	7	3	0	4
82	122	15	9	10	6	5
123	163	10	7	7	3	3
164	204	8	2	8	6	0
205	245	1	1	1	0	0
246	286	3	2	1	1	2
287	327	3	2	3	1	0
328	368	1	0	0	1	1
369	409	3	1	1	2	2
410	450	1	0	1	1	0
451	491	3	0	3	3	0
492	532	2	0	0	2	2
533	573	2	0	2	2	0
574	614	0	0	0	0	0
615	655	1	1	1	0	0
656	696	2	1	2	0	1
697	740	4	0	2	4	2
741	1150	4	0	2	4	2
			47	60	62	41

Gráfica 4

Dureza total (D/T)



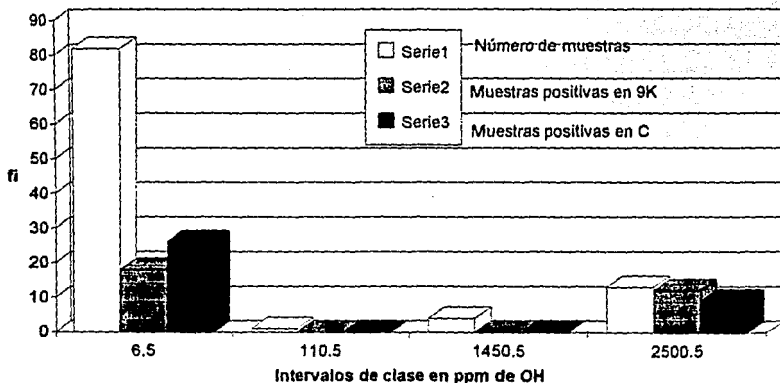
En la tabla de la derecha se muestran los intervalos de clase de OH en ppm, las frecuencias (fi) respectivas de cada intervalo, así como el número de muestras que resultaron positivas y/o negativas en su crecimiento bacteriano.

Graficando intervalos de clase en ppm de OH contra fi se obtiene la gráfica 5 de OH, donde se observa que la mayor parte de las muestras (82%) caen en el intervalo de 0 a 6 ppm de OH y de igual forma el 60% son aerobias y el 74 % anaerobias. Indicando que es probable encontrar bacterias ambos tipos en este intervalo. Se observa de esta manera que a un mayor valor de OH no habrá probabilidad de desarrollo y pocas muestras de encontrar.

Intervalos de clase	fi	9K	C	9K	C
OH		(+)	(+)	(-)	(-)
0 6	82	18	26	64	56
7 110	1	0	0	1	1
111 1450	4	0	0	4	4
1450 2500	13	12	9	1	4
		18	26	69	61

Gráfica 5

Hidróxilos (OH)



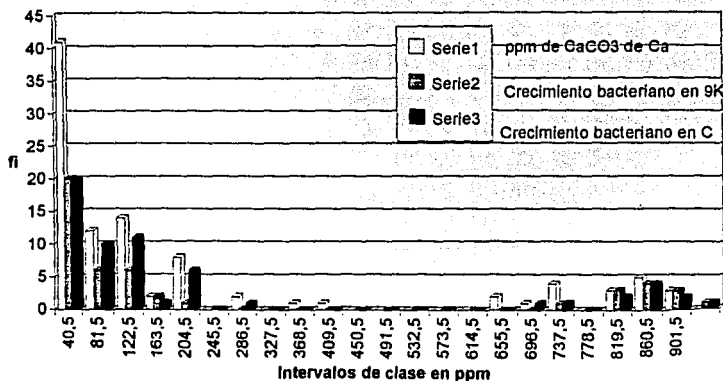
En la tabla de la derecha se muestran los intervalos de clase de Ca en ppm, las frecuencias (fi) respectivas de cada intervalo, así como el número de muestras que resultan positivas y/o negativas en su crecimiento bacteriano.

Grificando intervalos de clase de Ca en ppm contra fi, se obtiene la gráfica 6 de Ca, donde se observa que el mayor número de muestras (69%) están en 0 a 163 ppm de CaCO₃, con un 72% en bacterias aerobias y otro 70% en anaerobias. Indicando que es igual la probabilidad de encontrar ambos tipos de bacterias en este intervalo. Si se observa la gráfica la cantidad de bacterias y el número de muestras disminuye conforme incrementa la concentración de Ca.

Intervalos de clase	fi	9K (+)	C (+)	9K (-)	C (-)
0	40	41	20	21	21
41	81	12	6	10	6
82	122	14	6	11	8
123	163	2	2	1	0
164	204	8	1	6	7
205	245	0	0	0	0
246	286	2	0	1	2
287	327	0	0	0	0
328	368	1	0	0	1
369	409	1	0	0	1
410	450	0	0	0	0
451	491	0	0	0	0
492	532	0	0	0	0
533	573	0	0	0	0
574	614	0	0	0	0
615	655	2	0	0	2
656	696	1	0	1	1
697	737	4	1	1	3
738	778	0	0	0	0
779	819	3	3	2	0
820	860	5	4	4	1
861	901	3	3	2	0
902	2600	1	1	1	0

Gráfica 6

Calcio (Ca)

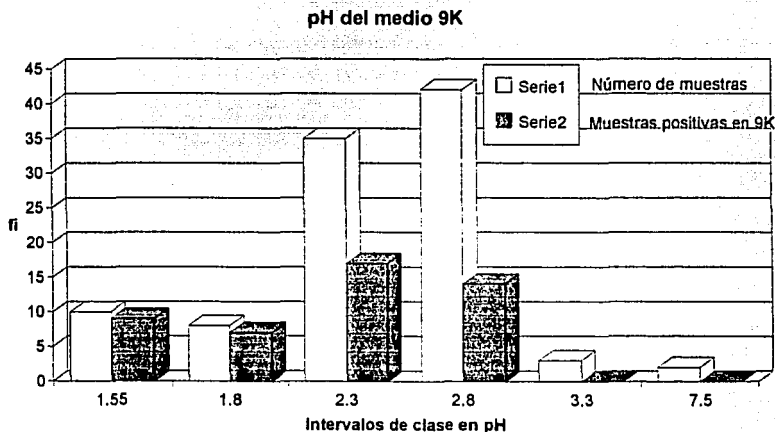


En la tabla de la derecha se muestran los intervalos de clase del pH final del medio 9K, después de las tres semanas de incubación, las frecuencias (fi) respectivas de cada intervalo, así como el número de muestras que resultaron positivas y negativas en el crecimiento bacteriano.

Graticando intervalos de clase de pH del medio 9K contra fi, se obtiene la gráfica 7 del pH del medio 9K, donde se puede observar como la mayor parte de las muestras (77%) - presentan un cambio de pH entre 1.6 a 2.8, - es decir que son en su mayor parte bacterias que requieren un medio ácido, entre este intervalo. Así el 80% resultaron positivas en este rango. Indicando que son más las bacterias con este tipo de característica.

Intervalos de clase	fi	9K	
		(+)	(-)
pH 9K			
1	1,5	10	9
1,6	1,8	8	7
1,9	2,3	35	17
2,4	2,8	42	14
2,9	3,3	3	0
3,3	7,5	2	0
		47	53

Gráfica 7

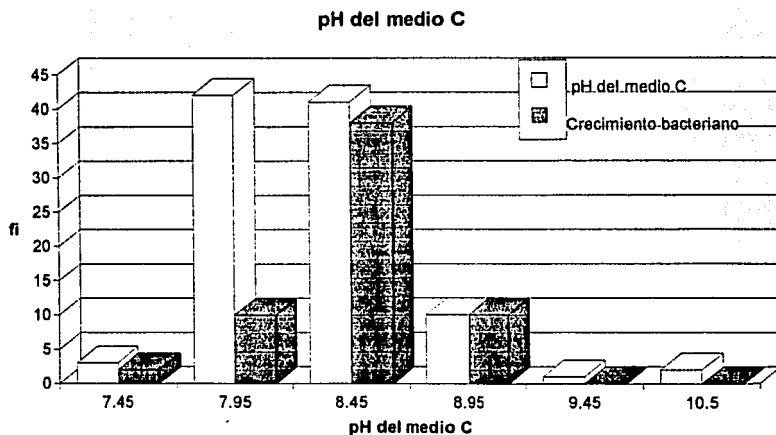


En la tabla de la derecha se muestran los intervalos de clase del pH final del medio C, después de las tres semanas de incubación, las frecuencias (fi) respectivas de cada intervalo, así como el número de muestras que resultaron positivas y negativas en el crecimiento bacteriano.

Graficando intervalos de clase de pH del medio C contra fi, se obtiene la gráfica 8 - del pH del medio C, donde se observa que la mayor parte de las bacterias anaerobias están en el intervalo de pH de 7.5 a 8.4. Así el número total de muestras que se encuentran en este intervalo son un 83%, y 80 % fueron positivas. Indicando que son mayor la cantidad de bacterias que requieren de este cambio de pH al medio, en este intervalo.

Intervalo de clases		fi	9K (+)	9K (-)
pH C				
7	7,4	3	2	1
7,5	7,9	42	10	32
8	8,4	41	38	2
8,5	8,9	10	10	0
9	9,4	1	0	1
9,4	10	2	0	2
			60	38

Gráfica 8

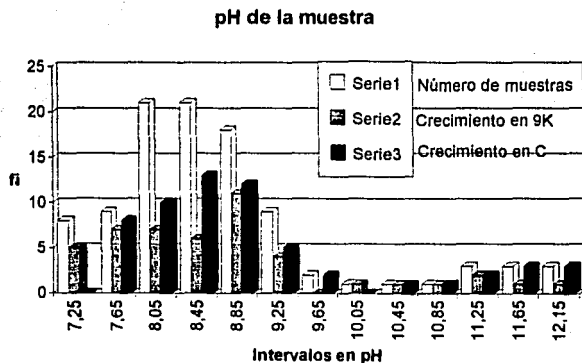


En la tabla de la derecha se muestran los intervalos de clase del pH de la muestra de agua al tomarla, y las frecuencias (fi) respectivas de cada intervalo, así como el número de muestras positivas y negativas en el crecimiento bacteriano.

Graficando intervalos de pH de la muestra contra fi, se obtiene la gráfica 9 de pH, donde se observa que la mayor parte de las muestras (78%) caen en pH de 7.3 a 9.2. Así el 74% fueron aerobias y el 80% anaerobias. Por tanto es igual la probabilidad de desarrollo para ambos tipos de bacterias, con este tipo de características. Indicando que es un poco mayor la probabilidad de encontrar aerobias que anaerobias en este intervalo.

Intervalos de clase		fi	9K	C	9K	C
pH de la muestra			(+)	(+)	(-)	(-)
6,8	7,2	8	5	0	3	8
7,3	7,6	9	7	8	2	1
7,7	8	21	7	10	14	11
8,1	8,4	21	6	13	15	8
8,5	8,8	18	11	12	7	6
8,9	9,2	9	4	5	5	4
9,3	9,6	2	0	2	2	0
9,7	10	1	1	0	0	1
10,1	10,4	1	1	1	0	0
10,5	10,8	1	1	1	0	0
10,9	11,2	3	2	2	1	1
11,3	11,6	3	1	3	2	0
11,7	12,1	3	1	3	2	0
			47	60	53	40

Gráfica 9



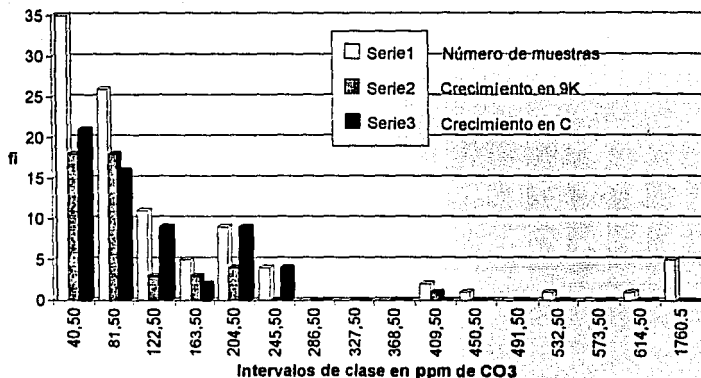
En la tabla de la derecha se muestran los intervalos de clase del CO₃ en ppm y frecuencias (fi) respectivos de cada intervalo, -- así como el número de muestras que resultaron positivas y/o negativas en el crecimiento bacteriano.

Graticando intervalos de clase de CO₃ en ppm contra fi, se obtiene la gráfica 10 de CO₃, donde se observa que la mayor parte de las muestras (72%) caen en un intervalo de 0 a 122 ppm de CO₃, de los cuales el 82% -- son aerobias y 75% anaerobias. Indicando que es mayor la probabilidad de encontrar ----- aerobias que anaerobias. La gráfica muestra -- que a mayor concentración de CO₃ menor--- cantidad de muestras y menor probabilidad de encontrar bacterias corrosivas.

Intervalos de clase	fi	9K	C	9K	C	
CO ₃		(+)	(+)	(-)	(-)	
0	40	35	18	21	17	14
41	81	26	18	16	8	10
82	122	11	3	9	8	2
123	163	5	3	2	2	3
164	204	9	4	9	5	1
205	245	4	0	4	4	0
246	286	0	0	0	0	0
287	327	0	0	0	0	0
328	368	0	0	0	0	0
369	409	2	1	0	1	2
410	450	1	0	0	0	0
451	491	0	0	0	1	1
492	532	1	0	0	1	1
533	573	0	0	0	0	0
574	614	1	0	0	1	1
614	1760	5	0	0	5	5
		47	61	53	40	

Gráfica 10

Carbonatos (CO₃)



Discusión de resultados

TABLA B

Prueba fisicoquímica	Rango en ppm	Porcentaje de muestras	Porcentaje Aerobico	Porcentaje Anaerobico
A/F	0 - 62	72%	77%	82%
A/T	76 - 275	59%	82%	70%
HCO ₃	40 - 204	70%	79%	70%
D/T	0 - 204	70%	82%	70%
OH	0 - 6	82%	60%	74%
Ca	40 - 163	69%	72%	70%
pH 9K	1.9 - 2.8	77%	80%	
pH C	7.9 - 8.4	83%		80%
pH muestra	7.6 - 9.2	76%	74%	80%
CO ₃	40 - 122	72%	82%	75%

En la tabla B, se indican los rangos que son más probables de presentarse en las aguas de uso industrial en el área metropolitana de la Ciudad de México y Refinerías, así también son los intervalos en los cuales son más probables de presentar bacterias corrosivas. Pero esto no quiere decir que los demás intervalos no presenten bacterias corrosivas, sino que tienen menor probabilidad de presentarlas y son pocas las industrias que pueden presentar estos rangos.

La columna de porcentaje de muestras, indica que de un 59 a un 83% de la población industrial analizada se encuentra en estos intervalos, esto es, que es mayor el porcentaje de industrias que se presentan en estos intervalos de características fisicoquímicas.

En la columna de porcentaje aerobico, se muestra que entre un 72 a 82 % total de las muestras que resultaron positivas, se encuentran con bacterias aerobias; y en la columna del porcentaje anaerobico se muestra que de un 70 a 80% se encuentran con bacterias anaerobias. Esto nos ayuda a concluir que las bacterias aerobias tienden a crecer más en ciertos intervalos que las anaerobias, pues estas últimas, como se observa en cada una de las tablas de intervalos de frecuencia, tienden a desarrollarse en un mayor rango.

De lo que se concluye, que en general estas bacterias pueden desarrollarse en aguas que presenten este tipo de características fisicoquímicas con estos intervalos, resultando ser, de esta manera, su mayor probabilidad de desarrollo en estos intervalos. Y además, son rangos que deben tenerse en cuenta en la industrial, puesto que la mayor población industrial analizada entra dentro de estos rangos, y además presentan problemas de desarrollo de este tipo de bacterias.

Queda demostrado que en aguas de uso industrial con estas características fisicoquímicas las bacterias se desarrollan, pero el hecho de que el agua con determinada característica y concentración, por ejemplo calcio, favorezca o no al crecimiento de la bacteria, es un punto que había que demostrarse. Esto es que pueden las bacterias estar ahí desarrollándose pero sin que les afecte el medio, pero también puede que necesiten de ciertas condiciones, como las características fisicoquímicas que presentan determinadas aguas de uso industrial, para que se establezcan y se desarrollen.

Ahora bien, con respecto a los medios, el medio A, para bacterias aerobias, no resultó ser fácil de preparar debido al manejo de una segunda prueba de verificación de crecimiento de bacterias, no fue eficiente por que esta prueba para verificar el crecimiento de bacterias corrosivas resultaba positivas, aún con un medio sin inocular, y además no proporcionaba alguna característica física visible que pudiese demostrar la presencia de bacterias, ya que el medio era totalmente translúcido tanto al inicio como al final del tiempo de incubación. Probablemente la preparación no fue la adecuada.

El medio Starkey, para bacterias anaerobias, resultó de fácil preparación, pero no en la eficiencia y la visibilidad, ya que el medio estaba translúcido cuando se encontraba sin inocular y después de la inoculación e incubación del mismo, lo cual no daba ninguna respuesta positiva o negativa de la prueba.

En general se considera que el medio A no resultó eficiente debido a que el medio no incluye en sus sales basales alguna sal ferrosa que favorezca el crecimiento de estas bacterias. Y el medio Starkey, no mostró la eficiencia necesaria debido a que no hay ninguna fuente orgánica que facilite el crecimiento de las BSR.

Capítulo 6

Conclusiones

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Conclusiones

1) En conclusión, las bacterias corrosivas tienden a crecer en un amplio rango fisicoquímico, pero siempre tienden a desarrollarse más en una determinada concentración.

2) Así los resultados del presente estudio revelaron que en el 77% de muestras analizadas presentan bacterias corrosivas y que en un 78 % , es decir en 60 muestras, se presentaron BSR, y en un 61% (47 muestras) fueron sulfatooxidantes, esto indica que es más posible encontrar BSR que sulfato-oxidantes. Siendo de esta manera más el problema por las BSR

3) En torres de enfriamiento, circuitos y procesos es donde se presenta mayor problema de corrosión por este tipo de bacterias.

4) De acuerdo a los resultados obtenidos la corrosión anaerobica es un serio problema económico, más que la aerobia, ya que las bacterias aerobicas que corroen, oxidan los metales formando oxidos metálicos, como productos de corrosión y tienden a formarse y a formar su propio medio de desarrollo produciendo una alta concentración de ácido sulfúrico, lo que provoca la corrosión, en tanto que las especies anaerobias (BSR) son las que provocan, en tuberías y sistemas de enfriamiento e intercambio de calor, incrustaciones y corrosión, disminuyendo la eficacia de estos, además de que producen fallas en los equipos a corto tiempo. Así las sulfato-oxidantes (aerobias), no inician directamente la corrosión sino que cuando se ha establecido el proceso de corrosión, estas bacterias aceleran o contribuyen a la formación de productos de corrosión.

SUGERENCIAS

Debido al gran problema que presenta la industria debiera ser este un factor de mayor estudio, tanto en la industria como en la enseñanza profesional, ya que de hecho se sabe que muy pocas son las personas que tienen conocimiento sobre este tema. La educación y entrenamiento en los principios y prácticas de la corrosión, reviste gran importancia en la conservación de metales y en la prevención de fallas debido a la influencia del medio. Con respecto a esto, se puede decir, que desde el punto de vista cada técnica anticorrosiva o de protección aplicada por una persona capacitada, a parte de dar confianza, brindará una protección mucho más prolongada .

Este reporte experimental pretende ser un inicio para dar origen a un proyecto de búsqueda de estudios y soluciones a este problema económico y social. De manera que el método de aislamiento de bacterias, consideró que es posible de ser reproducido en el laboratorio de microbiología de la Universidad La Salle. Por lo que este puede ser un inicio para la creación de una línea de investigación sobre este tipo de bacterias. Siendo de esta manera de gran utilidad para la formación de personas que deseen introducirse a este tema de gran interés.

Bibliografía

BIBLIOGRAFIA

- 1) Appling John W., Cloninger C. K. / Improved Medium for Sulfate Reduction Bacteria. / *Producer Bacteriology*, Vol. 28, 7. Pag 15-17.
- 2) Ajit K. Mishra and Pradosh Roy./ A note on the growth of *Thiobacillus ferrooxidans* on solid medium./ *Journal of Applied Bacteriology* 1979, 47, 289-292.
- 3) Adams Lee F. Chiorse William C./ Influence of Manganese on Growth of a Sheathless Strain of *Leptothrix discospora*. / *Applied and Environmental Microbiology*, Mar. 1985. p 556-562. Vol. 49, No.3
- 4) American Public Health Association. / American Water Works Association and Water Pollution Control Federation; / Métodos Normalizados para el análisis de aguas potables y residuales; Ediciones Díaz de Santos S.A / Traducción Diorki S.A., Madrid, España: 1989.
- 5) A. Schrader Janet A.,/ Phenotypic swithching of *Thiobacillus ferrooxidans*./ *Journal of Bacteriology*, Sept. 1988. p. 3915-3923. Vol. 170. No 9.
- 6) American Water Works Association; / Water quality and treatment. A. Handbook of Community Water supplies;/ Mc Graw Hill Inc.; 4th edition; USA, 1974
- 7) Barrie Johnson D., Afzal Ghauri M./ Isolation and characterization of an acidophilic , heterotrophic bacterium capable of oxidizing ferrous iron./ *Applied and Environmental Microbiology*, Sept 1990, p. 2801-2806. Vol. 56. No 9.
- 8) Berguey's. *Manual of Systematic. Bacteriology. Vol 1 al Vol 4* Stanley T. Williams, M. Elizabeth, Sharpe, Williams and Wilkins 1989.
- 9) Bibb Meryl./ Material Test and Research biological induced corrosion proceeding of international conference on biologically induced corrosion./ 1985. NAC.
- 10) Biological analysis of subsurface injection water./ American Petroleum Institute New York, N. Y. 10020. API RP 38 Second Edition. december 1965. pags.2-7
- 11) Boogerd F. C. and Virind J. P. M./ Manganese oxidation by *Leptothrix discospora*. / *Journal of Bacteriology*, Feb, 1987. Pags 489.494. Vol. 169. No 2.
- 12) Brock, T.D. And M.T Madigan. / *Biology of microorganisms*, 6th. edition. 1991.Publ, little Brown and Company, Boston, USA. 949.
- 13) Castañeda Ramos Fernández Alfredo./ Planeamiento para la resolución de un problema de contaminación industrial de aguas./ México D.F. 1976. UNAM. Pags. 12-15
- 14) Cortés Valtierra Juan Antonio./ Tratamiento de agua en una corriente lateral de una torre de enfriamiento./ México D.F. 1982. UNAM. Pags. 13-24.
- 15) Costerton J. W, G. G. Geesy./ April 1988. Bacterial biofilms in relation to internal corrosion monitoring and bicide strategies./ *Bioside development Materials performance*.Pags. 49-53

- 16) Cuevas Pérez Angel./ *Identificación y evaluación de bacterias sulfato reductoras en los sistemas de recuperación secundaria de hidrocarburos.*/ México D.F 1974. UNAM. p 57-77.
- 17) Chaterreau. / *Biologically Induced Corrosion.* / NACES, Maryland, 1985, Chaterreau, J. *Corrosión Bacteriana.* Ed. Limusa, México, 1985.
- 18) Chea Chang Yun and Myerson Allans./ *Growth models of the continuous bacterial leaching of iron pyrite by Thiobacillus ferrooxidans.*/ *Biothecnology and Bioengineering*, Vol 24, Pp- 889-902(1982).
- 19) D. Brock Thomas./ *Biology of microorganisms.*/ Editorial Printence Hall, Sixth edition. pag. 531, 731-733, 690-693, 579-582, 646-651, 723, 724.
- 20) Dalsgaard Tage./ *Effect of acetylene on nitrous oxide reduction and sulfide oxidation in batch and gradient cultures of Thiobacillus denitrificans.*/ *Applied and Environmental Microbiology*, May 1992, p. 1601-1608. Vol. 58, No 5.
- 21) Devereux Richard, Shao-Huahe./ *Diversity and origin of Desulfovibrio Specie: Phylogenetic definition of a family.*/ *Journal of Bacteriology*, July 1990, p.3609-3619. Vol. 172, No. 7.
- 22) Dorrington Rosemary A./ *Identification and sequence of the basic replication region of broad-host-range plasmid isolated from Thiobacillus ferrooxidans.*/ *Journal of Bacteriology*. may 1989, p. 2735-2739 Vol.171 No. 5.
- 23) Fauque G., Brushi M./ *Purification and some properties of cytochrome C 553 (550) isolated from Desulfovibrio Desulfuricans normay.*/ *Biochemical and biophysical research communications.* Vol. 86, No4 1979. Feb. 28. p. 1020-1029.
- 24) Forshaug Braddock Joan./ *Growth kinetics of Thiobacillus ferrooxidans isolated from arsenic mine drainage.*/ *Applied and Environmental Microbiology*, July 1984, p. 48-55. Vol 48, No 1.
- 25) García Ochoa E., Malo Tamayo J. M., Uruchurtu Chavarrín Y./ *El medio nos corroe.* Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología./ Mayo 1993. Vol. 15, Núm. 200. Pags. 20-28.
- 26) Garnain./ *Tratamiento de aguas.*/ Editorial Omega. Barcelona 1982, p. 11-106.
- 27) Gouda V. K., I. M. Banat. / *Microbiologically Induced Corrosion of UNd N04400 in Seawater.* / *Corrosion Engineering* Vol. 49, No 1. January 1993. Pags. 63-73
- 28) Gutiérrez R./ *Estudio fisiológico del Thiobacillus ferrooxidans.*/ *Rev. Lat.-Amer. Microbiología. Parasitología.* 10:181-187. 1968.
- 29) Hamilton, W. A. 1985/ *Sulphate-reducing bacteria and anerobic corrosion.* / *Annu. Rev. Microbiol.* 39:195-217.
- 30) Hans-Jürgen Seitz. /*Chemolithotrophic growth of Desulfovibrio desulfuricans with hydrogen coupled to ammonification of nitrate or nitrite.*/ *Arch. Microbiol.* 1986. 146: 63-67.

- 31) Harley, J. P. and Prescott L. M. / *Laboratory exercises in Microbiology*. 1990 Publ. Wm. C. Brown publisher, Dubuque, IA, USA. 416 .
- 32) Hernández Muñoz Aurelia. / *Inspección y control de corrosión de una torre de enfriamiento.*/ México 1991. Tesis UNAM
- 33) Huante Hernández Edith. / *Inspección y control de corrosión de una torre de enfriamiento.*/ México 1991 Tesis UNAM.
- 34) ICYT./ *Información Científica y Tecnológica.*/ Febrero 1988. Vol 10 Núm 137. México, D.F
- 35) Johnson, D. B., J. H. M. Macvicar, and S. Rolfe. / *A new medium for the isolation and enumeration of Thiobacillus ferrooxidans and acidophilic heterotrophic bacteria.* / *J. Microbiol. Methods*. 1987. 7:9-18.
- 36) Jones Carol A and D. P. Kelly./ *Growth of Thiobacillus ferrooxidans on ferrous iron in chemostat culture: influence of product and substrate inhibition.*/ *Journal Chemical Tech. Biotechnol.* 1983, 33B, 241-261.
- 37) La Combe Barron Jean./ *Growth and maintenance of Thiobacillus ferrooxidans cells.*/ *Applied and Environmental Microbiology*, Sept. 1990, p. 2801-2806. Vol. 56. No 9.
- 38) Liu M. C, Costa C., Coutinho I. B./ *Cytochrome components of nitrate and sulfate respiring Desulfovibrio desulfuricans ATCC 27774.*/ *Journal of Bacteriology*, Dec. 1988, p. 5545-5551. Vol. 170. No 12.
- 39) Liu M. C., DerVaataniana D.V./ *On the nature of oxidation-reductions properties of nitrite reductase from Desulfovibrio desulfuricans.*/ *Biochemical and Biophysic Research Communications* Sept. 16, 1980 Vol. 96, No 1 p. 278-285
- 40) McNelli M. B. And Little B. J. / *Technical Note: Mackinawite Formation During Microbial Corrosion.*/ *Science Corrosion* Vol. 46, No 7 July 1990. pags. 599-601
- 41) Malo José María y Uruchutu Ch. Jorge./ *El origen de la corrosión. Imaginario Científico-Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.*/ México, S.A de C.V. Mayo 1993. Vol. 15 Núm. 200. Pags.-12-17.
- 42) Manning Herbert L. / *New medium for isolation iron oxidizing and heterotrophic acidophilic bacteria from acid mine drainage.*/ *Applied and Environmental of Microbiology*, Dec. 1975, p. 1010-1016. Vol. 30. No 6.
- 43) *Manual de aguas/ Su naturaleza, tratamiento y aplicaciones.*/ Mc Graw Hill. Tomo 1, 1967.
- 44) *Manual de Prácticas de Microbiología Agrícola.*/ Instituto Politécnico Nacional./ Escuela 4 Nacional de Ciencias Biológicas. México, 1990. Pags. 60-65.
- 45) Mason./ *Biological of the contamination of the water.*/ Editorial Alhambra. España 1984. p. 166-171.

- 46) Melvin P. Silverman./ *Studies on the chemioautotrophic iron bacterium Ferrobacillus ferrooxidans.* Feb. 1960. Vol 78.
- 47) *Microbiology fundamentals and applications/ 2nd. edition* New York 1989./ Mac. Millan Publishing Company. p. 136, 137, 304, 523-527, 532.
- 48) Mishra Ajit K. and Pradosh Roy./ *A note on the growth of Thiobacillus ferrooxidans on solid medium./ Journal of Applied Microbiology* 1979, 47, 289-292.
- 49) Pelczar; Reid; Chan./ *Microbiología.* 4ta. edición México 1990. Editorial Mc. Graw Hill. p. 618-619.
- 50) Pope Daniel H./ *Methodos of Investigating undeposit Microbiologically Influenced Corrosion.* /Nov. 1989. *Environment Treatment & Control.*Pags. 46-51
- 51) Posgate J. R, FRS./ *The sulphate reducing bacteria./ Cambringe University. Press* 1979. Inglaterra.
- 52) Prank J. T, De Bruyn J. C. / *Anaerobic growth of Thiobacillus ferrooxidans./ Applied and Environmental of Microbiology,* July 1992. p. 2227-2230. Vol. 58, No 7.
- 53) Reinheimer G / *Microbiología de las aguas/ Editorial Acribia. S.A Zaragoza. España.* 4ta edición 1987
- 54) R. Lovley Derek./ *Availability of ferric iron for microbial reduction on bottom sediments of the freshwater tidal putomac river./ Applied and Environmental Microbiology,* Oct. 1986. p. 751-757. Vol 52, No 4.
- 55) SARTH./ *Dirección General de Usos de Agua y Prevención de la Contaminación./ Memorias del Curso: Microbiología y Aplicaciones en los procesos biológicos de tratamiento de aguas./ México; 1983*
- 56) Schnaitaman C. A, Korczynski M. S./ *Kinetic studies of Iron oxidation by whole cells of Ferrobacillus ferrooxidans./ Journal of Bacteriology,* Aug. 1969, p. 552-557. Vol 99, No 2.
- 57) Schrader Janet A./ *Phenotypic swithching of Thiobacillus ferrooxidans./ Journal of Bacteriology.* Sept. 1988, p.3915-3923. Vol. 170. No 9.
- 58) Shiratori Toshikazu./ *Cloning and expresion of Thiobacillus ferrooxidans mercury on resistance genes in Escherichia coli./ Journal of Bacteriology,* June 1989. p. 3458-3464. Vol. 171. No. 6
- 59) Smith, G.A., Nickels, J.S./ *Quantitive characterization of microbial biomass and community structure in subsurface material: a procaryotic consortial response to organic contamination./ Can. J. Microbiol.* 1986. 32:104-111 sp
- 60) Sorensen Jan./ *Reduction of ferric iron in anaerobic, marine sediment and interaction with reduction of nitrate and sulfate./ Applied and Environmental Microbiology,* Feb. 1982, p. 319-324. Vol. 43. No 2

61) Southam G./ Enumeration of Thiobacilli within pH. neutral and Acidic mine tailings and their role in the development of secondary mineral soil./ Applied and Environmental Microbiology, June 1992, p. 1904-1912. Vol. 58. No 6.

62) Stanley T. Williams. Sharpe M. Elizabeth. / Berguey's. Manual of Systematic Bacteriology./ Vol 1 al Vol 4. 1989.

63) Steenkamp Daniel J. and Peck Harry D., Jr. Proton. / Translocations associated with nitrite respiration on *Desulfovibrio desulfuricans*./ The Journal of Biological Chemistry Vol. 256. No 11, Jun. 10, pp. 5450-5458, 1981.

64) Sugio, T., W. Mizunashi, T. Tano, and K. Imai./ Production of ferrous ions as intermediates during aerobic sulfur oxidation in *Thiobacillus ferrooxidans*. / Agric. Biol. Chem. 1986. 50:2755-2761.

65) Suzuki Isamu, Takeuchi Travis L./ Ferrous iron and sulfur oxidation and ferric iron reduction activities of *Thiobacillus ferrooxidans* are effected by growth on ferrous iron sulphur or a sulphide ore./ Applied and Environmental Microbiology, June 1990, p. 1620-1626. vol. 56. No 6.

66) Tabita Robert and Ludngren D. G./ Utilization of glucose and the effect of organic compounds on the chemolithotroph *Thiobacillus ferrooxidans*./ Journal of Bacteriology, Oct. 1971, p. 328-333. Vol. 108. No 1.

67) Tatnall Robert E. / Fundamentals of Bacteria Induced Corrosion. / Materials Performance September, 1981. Pags. 32-38

68) Tatnall R. E., Stanton K. M./ Testing for the presence of Sulfate-Reducing Bacteria. / General Interest. MP/ August 1988. Pags. 71-80.

69) Temple Kenneth L. and Colmer Arthur R. / The autotrophic of iron by a new bacterium: *Thiobacillus ferrooxidans*./ Journal of Bacteriology 1951. Nov. Vol. 62 p. 605-611

70) Tsuyoshi Sugio, Takayuki Katagiri./ Existence of a new type of sulphite oxidase which utilizes ferric ions as an electron acceptor in *Thiobacillus ferrooxidans*. / Applied and Environmental Microbiology., Jan 1988, p. 153-157. Vol 54, No 1.

71) Tsuyoshi Sugio, Kathy J. White Kathy J. / Existence of a hydrogen sulfide: ferric iron oxidoreductase in iron oxidizing bacteria. / Applied and Environmental Microbiology, Jan 1992, p. 431-433. Vol. 58, No 1

72) Tsuyoshi Sugio, Yoshihiko Tsujita./ Reductions of Mo 6+ with elemental sulphur by *Thiobacillus ferrooxidans*./ Journal of Bacteriology, Set. 1988. p. 3915-3023- Vol. 170. No 9.

73) Van Demark Paul J. Batzing Borry L. / The microbes and introduction to their nature nad importance./ Editorial Benjamin Cummings publishing Company, INC 1987 p.511, 254-256, 532-536, 891-895.

74) Virind E.W de.and Jong. / Oxidation of Manganese and Iron by *Leptothrix discosphora*: Use of N, N, N', N': Tetramethyl-p-phenyldiamineas an indicator of Metal Oxidation./ *Applied and Environmental Microbiology*. Nov. 1990, p. 3458-3462. Vol. 56. No. 11.

75) Voordouw Gerrit, Voordouw Johanna K./ Reverse sample genome probing, a new technique for identification of bacteria in enviromnetal samples by DNA hybridization, and its application to the identifications of sulfate-reducing bacteria in oil field samples./ *Applied and Environmental of Microbiology*, Nov. 1991, p. 3070-3078. Vol. 57, No 11

76) W. Brent R., Pollock, Mohamed Loutfi./ Cloning, sequencing, and expression of gene encoding the high molecular weight cytochrome c from *Desulfovibrio vulgaris hildenboroung*./ *Journal of Bacteriology*, Jan. 1991, p. 220-228. Vol. 173, No 1.

77) W John. Appling, Cloninger C. K /. An improved Medium For Sulfate-Reducing Bacteria./ *Producer Monthly*. Vol 26, 7 . pag. 15-17.

78) Walter J., Weber J.R./ Control de calidad del agua, procesos fisicoquimicos./ Editorial Reverté, S.A. Barcelona, España. 1979. Pags. 20-39.

79) Warren P. Iverson. / Corrosion of iron formation of iron phosphide by *Desulfovibrio desulfuricans*. /*Nature*, Vol. 217, March 30, 1968, p. 1265-1267.

80) Weimer Paul J., Von Kavelaar Margaret J./ Effect of phosphate on the corrosion of carbon steel and on the composition of corrosion products in two stages continuous cultures of *Desulfovibrio desulfuricans*./ *Appeid and Environmental Microbiology*. Feb 1988, p. 386-396. Vol. 54, No.2.

81) William Adams, Lee F. / Influence of Manganese on Growth of a Sheathless Strain of *Leptothrix discospora*. / *Applied and Enviroment Microbiology*. Mar. 1985. Pags. 556-562. Vol. 49. No 3.

82) Yates James R./ Two families of repeated DNA sequence in *Thiobacillus ferrooxidans*./ *Journal of bacteriology*, May. 1987,p. 1861-1870. Vol. 169. No 5.