



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

“EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD A LA  
CORROSIÓN MICROBIOLÓGICA DE UN ACERO API X65”.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
INGENIERA QUÍMICA METALÚRGICA

P R E S E N T A :

MARÍA LIZBETH PÉREZ FERNÁNDEZ



MÉXICO, D. F.



2004

EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUÍMICA



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

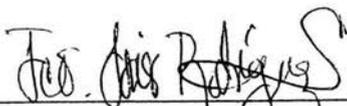
---

Jurado Asignado:

**Presidente:** Dr. Juan Genescá Llongueras  
**Vocal:** Dr. Francisco Javier Rodríguez Gómez  
**Secretario:** Ing. Carlos Rodríguez Rivera  
**1er. Suplente:** Ing. Marco Antonio Talavera Rosales  
**2do. Suplente:** M. en C. Ricardo Orozco Cruz

Sitio donde se desarrolló el tema:

Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares  
Centro Nuclear "Dr Nabor Carrillo Flores"  
Gerencia de Ciencia de Materiales.  
Carr. Federal México- Toluca, km. 36.5  
Salazar Municipio de Ocoyoacac  
Edo. de México.



Asesor: Dr. Francisco Javier Rodríguez Gómez



Supervisor Técnico: M. en C. Angeles Díaz Sánchez



Sustentante: María Lizbeth Pérez Fernández

---

**Dedicatorias.**

**A DIOS:**

Por la vida tan maravillosa que me regalaste, por ayudarme a llegar por fin al final de esta meta y por la fortaleza y compañía que me procuraste.

**A MIS PADRES:**

**Enrique Pérez Morlett y Estela Fernández Vargas.**

Por su apoyo incondicional, el cariño que siempre me han dado y por esas palabras de aliento que me han aliviado durante los momentos más difíciles de mi vida.

“Que Dios te guíe e ilumine tu camino para que logres alcanzar tu meta.”

Gracias Daddy. 25-marzo-'95.

**A MI ESPOSO:**

**Edgar Onofre Bustamante.**

Gracias a tu apoyo incondicional, amor, paciencia y consejos he logrado culminar este ciclo que tú mejor que nadie sabe lo que implicó. Eres un pilar en mi vida y tu compañía me ha ayudado a levantarme y seguir adelante. “Te amo bebé”.

**A MIS HERMANOS:**

**César, Enrique, Blanca, Claudia e Israel.**

Quiero decirles que los quiero mucho y que ustedes han representado un gran ejemplo para mí, ya que verlos realizar sus sueños ha sido una motivación para lograr los míos.

**A MIS ABUELITOS:**

**Anastasio Pérez<sup>†</sup>, Carmen Morlett<sup>†</sup>, Alfonso Fernández, Ignacia Vargas<sup>†</sup>, Bibiana Paz<sup>†</sup> y Sixta Aldana<sup>†</sup>.**

Porque donde quiera que estén, se que estarán orgullosos de mí. Siempre estarán en mi corazón. ¡Lo logré abuelitos!

**AL RESTO DE MI FAMILIA:**

Mis sobrinos **Jared, Karen, Ian y Ximena**, mis cuñadas **Nora y Abigail**, mi tía **Alicia**, mi prima **Angélica** y la **Sra. Ma. de Jesús Caballero<sup>†</sup>**.

Quiero expresarles mi más profundo agradecimiento por las porras que siempre me echaron para terminar mi tesis y por hacerme reír en los momentos tristes.

**A MIS ANGELITOS:**

**Jorge León Martínez<sup>†</sup> y José Eugenio<sup>†</sup> (Keno).**

Ha sido muy difícil continuar la vida sin ustedes. Se que siempre van conmigo y cuidan de mí. Gracias por el regalo de su amistad y por enseñarme a vivir... a su manera.

**A MIS AMIGOS:**

**Liliana Rivera, Jerry Lugo, Laura Torres, Eva Reyes y Verónica Ortiz.** Les agradezco su amistad y su apoyo, me siento enormemente feliz de ver que cada uno de nosotros conseguimos realizar nuestros sueños.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: María Leobeth

Pérez Fernández

FECHA: 13-Mayo-04

FIRMA: 

#### **A MIS AMIGOS METALEROS:**

**Sandy Alvarado Palacios, Raúl Ramírez, Pablo Monterroso Rivas y Víctor Alvarado Moguel.**

Siempre han sido mis grandes amigos y fue con ustedes con quienes compartí mis mejores experiencias en metalurgia. Les agradezco profundamente su excelente amistad y no olviden que los quiero de ♥.

A todos mis compañeros de la carrera: Verónica Ortiz, Claudia Flores, Manuel Ortega, Baudelio Ramírez, Yazmín Martínez, Agustín Ruíz, Vicente Álvarez, Arturo Chong, Darío Escobar, Jorge Téllez, Luis Soto, Israel Figueroa, Edgar Onofre, Ventura Becerril, David "kissi", Nadia Maza, Eduardo Montoya, Manuel Pérez-Figueroa, Diana Mendoza y Verónica Martínez.

#### *Agradecimientos.*

Al Dr. **Francisco Javier Rodríguez Gómez**. Por su apreciable asesoría durante el desarrollo de este proyecto, le agradezco su tiempo y dedicación, así como la amistad que me ha brindado.

A la M en C. **Ángeles Díaz Sánchez**. Por el gran apoyo recibido para la realización de este trabajo, por la idea de este excelente tema y por ser una amiga y un gran ejemplo de ser mujer metalúrgica.

Al Ing. **Edgar Onofre Bustamante**. Por su amable colaboración en la revisión y corrección de este proyecto, así como sus valiosos comentarios y contribuciones al mismo.

Al M. en C. **Carlos Arganis Juárez**. Por su intervención y asesoría para la elaboración de esta tesis y por su inigualable amistad.

Al M. en C. **Carlos Rodríguez Rivera**. Por ser un excelente profesor y amigo, por darme ánimos y corregir esta tesis.

Al Biólogo **Sergio Suárez Contreras**. Por tu participación y apoyo incondicional durante la realización de este proyecto. Te agradezco por enseñarme ese extraordinario mundo de las bacterias

Al técnico **Sergio Arredondo**. Por su colaboración y recomendaciones para la realización de este trabajo.

A **Manuel Ortega Mendoza**. Te agradezco infinitamente tu amistad, sabes que te quiero mucho y que eres parte de este proyecto.

Al Ing. **Cándido Atlatenco**. Usted ha sido más que un profesor para mí, soy privilegiada al poseer su amistad, constantemente me da consejos y sé que ha seguido de cerca mis pasos desde hace muchos años, siempre se ha interesado en todo lo que hago y está al pendiente de mí en todo momento. No sabe cuánto le agradezco todos esos detalles y espero no defraudarlo.

Al M. en C. **Faustino Juárez Sánchez**. Siempre me ha brindado su apoyo y me ha exhortado a que realice lo que me propongo, todas esas charlas que hemos tenido han sido de gran utilidad a lo largo de este proceso. Le agradezco su valiosa amistad, la confianza que siempre ha depositado en mí y los premios que nos ganamos.

ÍNDICE.

Resumen ..... i

**CAPÍTULO I**

1.0. Introducción ..... 1

Objetivos ..... 4

**CAPÍTULO II**

2.0. Fundamentos Teóricos ..... 5

2.1. Generalidades ..... 5

2.2. Microorganismos ..... 7

2.2.1. Clasificación ..... 7

2.2.2. Bacterias ..... 10

2.2.3. Adaptación ..... 10

2.2.4. Reproducción y crecimiento ..... 11

2.3. Corrosión ..... 13

2.3.1. Definición ..... 13

2.3.2. Potencial electroquímico ..... 15

2.3.3. Pasivación y capas protectoras ..... 16

2.3.4. Diagramas de potencial-pH ..... 17

2.3.5. Cinética de corrosión ..... 18

2.3.6. Técnicas electroquímicas ..... 20

2.3.7. Método de la Resistencia a la Polarización ( $R_p$ ) ..... 20

2.3.8. Método de Extrapolación de Tafel ..... 23

2.3.9. Técnica de Espectroscopia de Impedancia Electroquímica (EIS) ..... 25

2.4. Tipos de corrosión ..... 33

2.4.1. Corrosión Galvánica o bimetalica ..... 34

2.4.2. Corrosión Uniforme o general ..... 34

2.4.3. Corrosión Localizada ..... 34

2.4.4. Corrosión por Picaduras ..... 35

2.4.5. Corrosión en Grietas o hendiduras ..... 35

---

2.4.6. Corrosión Intergranular .....	35
2.4.7. Corrosión Bajo esfuerzo .....	36
2.4.8. Corrosión-Fatiga .....	36
2.4.9. Corrosión Selectiva .....	36
2.4.10. Corrosión Microbiológica .....	36
2.5. Corrosión Microbiológica .....	37
2.5.1. Definición .....	37
2.5.2. Factores que influyen en la corrosión microbiológica .....	37
2.5.2.1. Estado en el que se encuentra el material .....	37
2.5.2.2. Composición del medio .....	37
2.5.2.3. Acción microbiana .....	38
2.5.3. Microorganismos involucrados en el proceso de corrosión .....	39
2.5.4. Mecanismo de la corrosión microbiológica .....	41
2.5.5. Corrosión bajo condiciones anaerobias .....	43
2.5.6. Corrosión bajo condiciones aerobias .....	44
2.5.7. Acción de las ferrobacterias en la corrosión.....	45
2.5.8. Acción de las sulfobacterias en la corrosión .....	46
2.5.9. Acción de las bacterias sulfatorreductoras (SRB) en la corrosión .....	48
2.5.9.1. Formación de vesículas gelatinosas .....	48
2.5.9.2. Mecanismos de las bacterias sulfatorreductoras (SRB) .....	48
2.5.9.3. Efectos del biofilm microbiano sobre la corrosión .....	57
2.6. Prevención y control .....	63

### **CAPÍTULO III**

3.0. Desarrollo experimental .....	69
3.1. Material y equipo .....	69
3.2. Caracterización química y mecánica del acero .....	70
3.3. Cultivo y propagación de microorganismos .....	70
3.3.1. Cinética de crecimiento .....	71

---

3.3.2. Determinación de la producción de H <sub>2</sub> S .....	72
3.3.3. Identificación de microorganismos .....	73
3.4. Montaje e inoculación de los biorreactores .....	74

#### CAPÍTULO IV

4.0. Resultados y discusión .....	78
4.1. Caracterización Mecánica .....	78
4.1.1. Ensayo de dureza Brinell .....	78
4.1.2. Ensayo de dureza Rockwell B .....	78
4.1.3. Ensayo de tensión .....	78
4.2. Caracterización Química .....	78
4.3. Selección de cepas .....	79
4.4. Construcción de curvas de crecimiento .....	79
4.5. Producción de H <sub>2</sub> S .....	79
4.6. Discusión de la cinética de crecimiento y producción de H <sub>2</sub> S .....	81
4.6.1. Cinética de crecimiento cepa C1 .....	81
4.6.2. Cinética de crecimiento cepa C4 .....	81
4.6.3. Cinética de crecimiento cepa M21 .....	82
4.6.4. Cinética de crecimiento cepa M20 .....	82
4.7. Pruebas electroquímicas .....	87
4.7.1. Discusión de resultados de pruebas electroquímicas .....	96
4.7.2. Extrapolación de Tafel .....	96
4.7.2.1. Blanco .....	96
4.7.2.2. Cepa C1 .....	97
4.7.2.3. Cepa C4 .....	97
4.7.2.4. Cepa M21 .....	98
4.7.2.5. Cepa M20 .....	98
4.7.3. Resistencia a la polarización .....	99
4.7.3.1. Blanco .....	99

---

## Índice

---

4.7.3.2. Cepa C1 .....	99
4.7.3.3. Cepa C4 .....	100
4.7.3.4. Cepa M21 .....	100
4.7.3.5. Cepa M20 .....	101
4.7.4. Espectroscopia de impedancia electroquímica .....	101
4.7.4.1. Blanco .....	101
4.7.4.2. Cepa C1 .....	101
4.7.4.3. Cepa C4 .....	102
4.7.4.4. Cepa M21 .....	103
4.7.4.5. Mecanismo de Corrosión .....	105
4.8. Identificación de la presencia de microorganismos por técnicas de microscopía .....	104
<b>CAPÍTULO V</b>	
5.0. Conclusiones .....	109
<b>CAPÍTULO VI</b>	
Bibliografía .....	110

---

“EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD A LA CORROSIÓN MICROBIOLÓGICA DE UN ACERO API X65”.

RESUMEN.

En el presente trabajo experimental se evalúa la corrosión de un acero API X65 influenciada por microorganismos (MIC) mediante el uso de técnicas electroquímicas caracterizándolo mecánica, química y microestructuralmente.

La primera etapa del trabajo consistió en realizar la caracterización mecánica del acero realizando ensayos de dureza Brinell, dureza Rockwell y ensayos de tensión; se realizaron análisis químicos mediante la técnica de Espectrometría de Emisión por Plasma (ICP) para obtener la composición química del acero.

En la segunda etapa se llevó a cabo la propagación de microorganismos (bacterias sulfatorreductoras) mediante la siembra o inoculación de los mismos, en dos diferentes medios de cultivo, el Posgate Medio E (Posgate, 1979) para bacterias productoras de H<sub>2</sub>S y el Medio API RP38 (API 1965) para bacterias no productoras de H<sub>2</sub>S, determinando el pH, la temperatura y el tiempo de incubación, parámetros apropiados para el desarrollo de los microorganismos, así como manteniendo condiciones de anaerobiosis. Además se determinó la cinética de crecimiento de los microorganismos por medio de una variación del método del número más probable y la producción de H<sub>2</sub>S generado por los microorganismos mediante el método colorimétrico de Cord-Ruwish (1985).<sup>(34)</sup>

En la tercera etapa se realizó la caracterización del comportamiento electroquímico de las muestras de acero API X65 sometidas a la acción de un medio de cultivo con y sin la presencia de bacterias sulfatorreductoras productoras y no productoras de  $H_2S$ . Para llevar a cabo esta caracterización se diseñó y construyó un sistema (biorreactor) en el cual se pudiera contener a los microorganismos bajo las condiciones apropiadas requeridas y simultáneamente realizar las pruebas electroquímicas establecidas.

En la cuarta y última etapa se llevó a cabo la caracterización de los microorganismos mediante la observación en el microscopio electrónico de barrido de bajo vacío (MEBBV).

---

# **CAPÍTULO I**

## **INTRODUCCIÓN**

---

## 1. INTRODUCCIÓN.

Desde hace mucho tiempo se conoce el papel que desempeñan las bacterias en los procesos de corrosión metálica. En realidad este tipo de corrosión no representa una nueva forma, sino más bien establece la influencia de organismos vivientes en reacciones electroquímicas específicas. Los primeros trabajos en este campo se deben a von Wolzogen Kühr <sup>(1)</sup>, que en 1934 puso en evidencia el mecanismo electroquímico del ataque del hierro por los microorganismos sulfatorreductores.

Los microorganismos constituyen un vasto mundo de seres unicelulares extendidos por toda la biosfera, y desempeñan un importante papel en la naturaleza. Gran número de ellos, en el suelo o en el agua, descomponen activamente la materia orgánica y los minerales.

La corrosión microbiológica (o bien conocida como corrosión inducida por microorganismos) puede definirse como un proceso metabólico bacteriano que origina o acelera la destrucción de los metales, ocurre como resultado directo o indirecto de la actividad de los microorganismos. Esta actividad biológica puede influir en la corrosión en una gran variedad de medios, incluyendo suelos, tierra, aguas dulces, aguas saladas, o productos naturales del petróleo, en cualquier parte que haya hierro, manganeso, sulfatos o derivados azufrados, dentro o fuera de las tuberías o bien, al aire libre en los depósitos de agua. Estos organismos incluyen formas microscópicas como las bacterias y macroscópicas como las algas. Se ha observado que los organismos microscópicos y macroscópicos que producen corrosión viven y se reproducen en un intervalo de pH de entre 0 y 11, a temperatura entre -1 y 82 °C, y bajo presiones de hasta 1000 atmósferas.

Muchos de ellos forman esporas que pueden existir en estado latente por muchos años, tal vez siglos, y desarrollarse en el momento en que encuentran condiciones propicias.

Existen variedades aerobias, es decir, que necesitan oxígeno para vivir, pero otras son anaerobias y no requieren de oxígeno para su desarrollo. En la gran mayoría de las condiciones reales, ambos tipos de organismos se encuentran asociados en forma sinérgica, lo que hace aún más complejo el problema.

Los microorganismos producen metabolitos de diferentes composiciones, tales como ácidos orgánicos, ácidos minerales, amoníaco, o ácido sulfhídrico, los cuales actúan como medio corrosivo, y en otras circunstancias los microorganismos pueden concentrar halogenuros, los cuales provocarán severa corrosión localizada.

La corrosión microbiológica es un caso específico de corrosión, en la cual ciertos microorganismos intervienen en las reacciones catódicas que se dan entre el medio y el material. Este tipo de corrosión causa grandes daños a la industria, ya que incluso aceros normalmente resistentes a la corrosión (316), experimentan serios daños cuando en el medio al que se encuentran expuestos se localizan este tipo de microorganismos. <sup>(1)</sup>

Por tal motivo, es que se deben realizar investigaciones acerca de cómo influyen los microorganismos en el proceso de corrosión de un metal. En el caso específico de este trabajo, se indujo a la corrosión del acero API X65, típico para el transporte de hidrocarburos, para evaluar su susceptibilidad ante la acción agresiva de un medio inoculado con bacterias sulfatorreductoras.

Esta evaluación se realizó mediante la aplicación de técnicas electroquímicas, tanto de corriente directa (CD) como de corriente alterna (CA), durante diferentes estados de crecimiento de las cepas seleccionadas. Además, se llevó a cabo la caracterización del daño en el acero utilizando Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).

- **OBJETIVOS.**

**General:**

- Evaluar la susceptibilidad a la corrosión microbiológica de un acero API X65 ante la acción agresiva de un medio inoculado con bacterias sulfatorreductoras.

**Particulares:**

- Determinar algunos parámetros de los microorganismos, como la cinética de crecimiento y la producción de  $H_2S$  para conocer su posible agresividad corrosiva hacia el acero API X65.
- Caracterizar el comportamiento electroquímico de los sistemas utilizando las técnicas electroquímicas de Resistencia a la Polarización ( $R_p$ ), Extrapolación de Tafel (Tafel) y, Espectroscopia de Impedancia Electroquímica (EIS), durante el crecimiento de los microorganismos.
- Identificar el daño generado por los microorganismos en los cupones de prueba a través de la técnica de MEB.

---

**CAPÍTULO II**  
**FUNDAMENTOS TEÓRICOS**

---

## 2.0. FUNDAMENTOS TEÓRICOS.

### 2.1. GENERALIDADES.

La Corrosión tiene por objeto investigar el deterioro de los materiales por la acción del medio en que se usan. Tiene un gran interés práctico, ya que se ha comprobado mediante estudios hechos en numerosos países que los perjuicios causados por la corrosión equivalen del 1.5 al 3.5% del producto bruto nacional (PBN). <sup>(2)</sup>

Los procesos de *corrosión microbiológica* son reconocidos actualmente como la mayor fuente de problemas y fallas estructurales que afectan a una gran variedad de industrias. <sup>(3)</sup>

El primer reporte de MIC se publicó en 1891 por Garret, quien encontró que la corrosión de cables cubiertos podría atribuirse al amoníaco biogénico, al nitrito, y al nitrato. Casi dos décadas después, fue mostrado por Gaines que la asociación de diversos tipos de bacterias, en especial aquellas vinculadas al ciclo del azufre y ferrobacterias fueron responsables de la corrosión del hierro en suelos <sup>(4)</sup>. Estas observaciones se asociaron con condiciones aeróbicas. En 1919, Ellis y Harder informaron de depósitos en tuberías de agua por ferrobacterias. La primera evidencia de que los microorganismos juegan un papel directo en la corrosión en condiciones anaeróbicas fueron presentadas por von Wolzogen Kühr y van der Vlugt en 1934. Ellos postularon que las bacterias sulfatorreductoras son capaces de recoger el hidrógeno adsorbido desde la superficie del metal. Desde 1934 hasta ahora ha habido un número creciente de reportes de MIC sobre construcciones metálicas y no metálicas y en diversos ambientes.

El costo de la MIC es muy importante. Varias estimaciones se han hecho en los Estados Unidos y en el Reino Unido. Por ejemplo, ha sido reportado por Iverson que el costo anual de MIC de tubos enterrados en los Estados Unidos era de \$500 millones a \$2000 millones <sup>(5)</sup>. En el Reino Unido, se postuló que por lo menos 50% de la corrosión ocurrida sobre metales enterrados fue de origen microbial <sup>(6)(7)</sup>.

Además, uno de los problemas de corrosión asociados a las líneas de transporte y distribución tanto de petróleo como de sus derivados, es la corrosión promovida por microorganismos intrínsecos al sistema. Actualmente, México cuenta con una red de distribución de más de 64,000 Km., fabricadas en su mayoría con componentes de acero al carbono, ciertos hierros fundidos, y aceros inoxidable que cumplen de acuerdo a la normativa aplicable con las especificaciones de seguridad requeridas; sin embargo, la calidad del crudo mexicano ha disminuido notablemente, incrementando de forma sustancial su contenido de azufre (entre 1.5 y 4.5% en peso) distribuido en general en forma de diversos compuestos inorgánicos y orgánicos como sulfatos, tiosulfatos, sulfuros, sulfitos, mercaptanos, tiofenos, dibenzotiofenos, benzotiofenos, y otras moléculas complejas aún no determinadas <sup>(8)</sup>, muchos de los cuales promueven el desarrollo de microorganismos capaces de metabolizarlos, modificando directa o indirectamente las condiciones locales de las superficies metálicas, ya sea por la acidificación del medio después de la generación de ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S), o bien durante la sulfatorreducción que involucra un transporte activo de iones sobre la superficie del metal, formando celdas electroquímicas en las que determinados sitios del metal se comportan como ánodos, disolviéndose preferencialmente, lo cual ocasiona picaduras en la parte más baja del área afectada. <sup>(9)</sup>

A pesar de la existencia de algunas teorías que intentan explicar la modificación electroquímica del sistema <sup>(10) (11) (12)</sup>, aún existen interrogantes que deben ser resueltas para un posterior control del fenómeno; de hecho, la literatura especializada mantiene documentados pocos trabajos que integran de manera fundamental el aspecto metalúrgico de las aleaciones, su consecuente comportamiento electroquímico y la influencia de los microorganismos en todo lo anterior.

## 2.2. MICROORGANISMOS.

Los microorganismos constituyen uno de los tres componentes del sistema biota/metal/solución, que interacciona produciendo los fenómenos de bioensuciamiento (biofouling) y corrosión.

Los microorganismos son formas vivas tan pequeñas que no pueden verse directamente a simple vista, se encuentran en la naturaleza distribuyéndose en el aire, agua o suelo afectando de manera diversa la vida del hombre y animales.

La naturaleza del microorganismo en particular y las características de su crecimiento y metabolismo determinan el carácter perjudicial o benéfico de su influencia en determinado sistema o proceso industrial. <sup>(2)</sup>

### 2.2.1. CLASIFICACIÓN.

Existen diferentes clasificaciones para las bacterias con base en sus funciones nutritivas; *autótrofos* son aquellos microorganismos que obtienen por sí mismos sus requerimientos de energía y ciclo reproductivo a partir de materiales orgánicos; y *heterótrofos*, son aquellos microorganismos que requieren de la presencia de materia orgánica para completar su ciclo de vida.

Además de la clasificación anterior, actualmente se distinguen otros cuatro grupos:

- Los organismos *fotolitótrofos* que utilizan sustancias inorgánicas oxidables (minerales) como donadores de electrones con ayuda de la energía radiante. Así, estos organismos son “autótrofos.”
- Los organismos *fotoorganótrofos* que utilizan sustratos orgánicos oxidables como donadores de electrones con ayuda de la energía radiante. Así pues son “heterótrofos.”
- Los organismos *quimiolitótrofos* que obtienen su energía de reacciones de oxidorreducción y utilizan sustratos inorgánicos como donadores de electrones. Este es el caso de las bacterias sulfooxidantes y de las ferrobacterias. En su gran mayoría, se trata de bacterias “autótrofas” y utilizan el gas carbónico como única fuente para la obtención de carbón.
- Los organismos *quimioorganótrofos* que obtienen su energía a partir de fenómenos de oxidorreducción. Los sustratos orgánicos son los donadores de electrones. Se trata, pues, de organismos “heterótrofos.”

Hay dos condiciones que son indispensables para el crecimiento de estos microorganismos:

- La luz
- La ausencia de oxígeno

Dichos microorganismos sólo se desarrollan en las capas profundas del agua, ya que en las capas superficiales se encuentran algas fotosintetizadoras. <sup>(13)</sup>

Según sus requerimientos de oxígeno y fuentes de energía, los microorganismos pueden clasificarse también como:

- *Aerobios*: son los organismos que viven con la cantidad de oxígeno contenido en el aire.
- *Aerobios facultativos*: son los organismos capaces de vivir con la presión parcial de oxígeno, aún bajo condiciones de agotamiento del mismo.
- *Aerobios obligados o microaerofilicos*: son los organismos que crecen mejor en concentraciones de oxígeno considerablemente más bajas que las contenidas en el aire.
- *Anaerobios*: son los organismos capaces de crecer en ausencia de oxígeno, ya que lo obtienen de alguna otra fuente como de la reducción de compuestos que lo contienen, tales como sulfatos.
- *Anaerobios facultativos*: a) son aquellos organismos que en respuesta a la presencia o ausencia de oxígeno pueden intercambiar modos respiratorios aeróbicos y anaeróbicos de energía producida por su metabolismo. b) son aquellos organismos que aún cuando crecen en la presencia de oxígeno continuo emplean enteramente un modo anaeróbico de energía producido por su metabolismo.
- *Anaerobios obligados*: son los organismos que no pueden tolerar el oxígeno para crecer y sobrevivir. Se encuentran en asociación con otras bacterias que efectivamente remueven el oxígeno de la vecindad inmediata de las bacterias anaerobias. <sup>(14)(15)</sup>

### 2.2.2. BACTERIAS.

Las células bacterianas son protistas unicelulares. Se encuentran donde haya humedad y nutrientes en solución. Su tamaño varía de 0.5 a 2.0 micras, y se compone de un 80 % de agua y 20 % de material seco, del cual el 90 % es orgánico y el 10 % inorgánico.

Una subdivisión primaria basada en la estructura y la composición química de la pared celular, da dos grupos que se pueden llamar “*Gram positivo*” y “*Gram negativo*,” por el procedimiento de coloración. Las Gram negativo son más complejas que las Gram positivo. <sup>(16)</sup>

Las características más importantes de las bacterias son: su tamaño, forma, estructura y disposición con relación a otras bacterias de su misma especie. Las formas más conocidas son:

- 1) *Cocos*: son células que tienen formas esféricas, de 0.5 micras.
- 2) *Bacilos*: son células cilíndricas de 0.5 a 1.0 micras de ancho por 1.5 a 2.0 micras de largo.
- 3) *Espirilos*: son células de forma de espiral o bastones curvos de 6 a 15 micras de ancho.
- 4) *Vibrio*: son células cortas de forma de espiral incompleta. <sup>(17)</sup>

### 2.2.3. ADAPTACIÓN.

Los factores físicos que modifican a los microorganismos promoviendo su adaptación son:

- *Temperatura*: la temperatura determina la velocidad a la cual la célula realiza sus funciones vitales. La temperatura del medio circundante no transmite energía a la célula; ésta energía se debe producir dentro de ella. La temperatura rige los índices o velocidades de crecimiento,

multiplicación y muerte de los microorganismos. También modifica los índices de respiración o fermentación y otros fenómenos

Hay especies de bacterias que se desarrollan mejor en determinados intervalos característicos de temperatura. Algunas, *psicrófilas*, en frío (menos de 20 °C). Las *mesófilas*, en caliente (20-40 °C); otras, las *termófilas moderadas*, en un medio más caliente (40-55 °C) y algunas, las *termófilas extremas*, necesitan un ambiente muy caliente (más de 55 °C).<sup>(17)</sup>

- *Temperatura óptima de crecimiento*: es la temperatura en que la multiplicación de las bacterias es más rápida.
- *pH*: el crecimiento y la actividad microbiana son alterados notablemente por el pH del medio. El crecimiento más rápido o abundante aparece en una zona limitada de pH óptimo.<sup>(2)</sup>

#### 2.2.4. REPRODUCCIÓN Y CRECIMIENTO.

Su reproducción se lleva a cabo por fisión binaria (algunas asexualmente o por gemación) a una velocidad máxima promedio de 20 minutos, a esta velocidad si no hubiera factores adversos, una sola bacteria daría origen a 250,000 en seis horas. Sin embargo, éstas no pueden seguir este ritmo de reproducción durante mucho tiempo, pues pronto les faltaría el alimento o serían inhibidas por acumulación de productos de deshecho.

En estudios de laboratorio, cuando la bacteria se inocula en un medio de cultivo, se observan los siguientes periodos de crecimiento (Figura 2.1):

1).- Fase inicial o de incubación: En esta fase se presenta muy poca actividad bacterial, debido a que las bacterias están en un periodo de adaptación al medio antes de presentarse la división celular.

2).- Fase Logarítmica: Aquí, las bacterias se están reproduciendo a su velocidad máxima, incrementándose por progresión geométrica como resultado de la reproducción por fisión. En este periodo, si se grafica el logaritmo del número de bacterias presentes contra el tiempo, se obtendrá una línea recta.

3).- Fase Estacionaria: En esta fase, las bacterias están muriendo a la misma velocidad a la que se están formando.

4).- Fase de Muerte: La producción logarítmica de células viables de reproducción a las no viables es menor cada vez, debido a diferentes factores como el agotamiento de los nutrientes, falta de oxígeno, acumulación de los productos tóxicos y la falta de espacio.

La capacidad de estos microorganismos para crecer y realizar su función específica está limitada por la disponibilidad del alimento para cubrir sus requerimientos energéticos y los cambios en el medio. El medio utilizado debe contener los nutrientes necesarios para la realización de la actividad bacterial. <sup>(13)</sup>

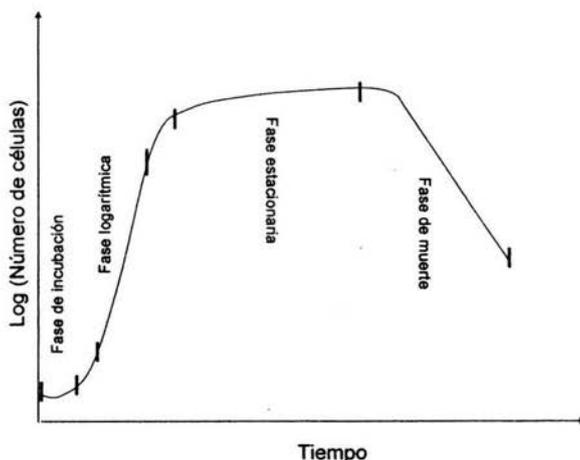


Figura 2.1. Curva de crecimiento de una población bacteriana. <sup>(17)</sup>

La forma de la curva de crecimiento puede variar con las condiciones en que se hace el cultivo.

## 2.3. CORROSIÓN.

### 2.3.1. DEFINICIÓN.

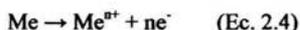
La corrosión es un proceso de degradación fisicoquímica de los materiales metálicos o no metálicos frente a condiciones agresivas (medio) a través del tiempo. Para que exista la corrosión electroquímica o húmeda debe ponerse en funcionamiento una celda galvánica (pila) que está formada por cuatro elementos esenciales: un ánodo, un cátodo, un electrolito y una unión eléctrica entre ánodo y cátodo. En el ánodo, el metal que se corroe pasa al electrolito como iones cargados



### 2.3.2. POTENCIAL ELECTROQUÍMICO.

Para que ocurran todas las reacciones mencionadas anteriormente en la celda galvánica, debe haber un movimiento de los electrones del ánodo al cátodo por el hilo conductor. Este desplazamiento es debido a la *diferencia de potencial* que existe entre ambos metales. La diferencia de potencial se define como el trabajo realizado por el desplazamiento de los electrones.

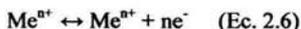
Sin embargo, para saber cuál metal se corroerá y cuál no en una pila de corrosión se deben conocer sus potenciales electroquímicos de corrosión. El potencial electroquímico de un metal corresponde al potencial eléctrico generado cuando se sumerge éste en una solución estándar (1M) que contenga sus propios iones, a una temperatura de 25 °C y a una presión de 1 atmósfera. Al estar en contacto el metal con el electrolito se produce, por un lado, una tendencia a disolverse, quedando de esta manera, cargado negativamente



mientras que por otro lado, los iones del electrolito se depositan sobre el metal:



Se establece de esta manera un equilibrio entre la tendencia del metal a entrar en la solución para incrementar la concentración de iones y la tendencia opuesta de los mismos iones de regresar al metal para reducir la concentración de la solución:



Se crea así una diferencia de potencial entre el metal y el electrolito. Sin embargo, este potencial no se puede medir directamente, ya que si se intenta medir en cualquier fase

metal – solución con cualquier instrumento se necesitaría una segunda terminal para cerrar el circuito de medida, introduciéndose de esta manera una segunda interfase, cuyo potencial absoluto se desconoce. Para poder medir esta diferencia de potencial se adoptó un electrodo patrón que es el *Electrodo Normal de Hidrógeno* (ENH), al cual, por convención se le asignó un valor de cero Volts.

$$E = -0.059 \text{ pH} \quad (\text{Ec. 2.7})$$

Debido a las dificultades que se presentan al manejar el ENH se utilizan los electrodos de referencia. Estos electrodos de referencia deben ser fáciles de manejar, de construcción sencilla, y su potencial de equilibrio en la reacción óxido–reducción debe ser constante con respecto al ENH.<sup>(20)</sup>

Durante la experimentación de este trabajo se utilizó un electrodo de referencia de platino, cuyo potencial de electrodo es 1.023 V vs. ENH a temperatura ambiente.

### **2.3.3. PASIVACIÓN Y CAPAS PROTECTORAS.**

Como resultado de las reacciones de corrosión, se producen algunos óxidos o hidróxidos. Estos productos pueden ser de dos tipos: *solubles e insolubles*. Los *insolubles* generalmente son películas muy delgadas de óxido, invisibles al ojo, como es el caso del óxido de cromo,  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ , que se forma en los aceros inoxidable o en el aluminio, el cual expuesto al aire forma una capa de óxido invisible, la cual protege a éste contra la corrosión atmosférica. Este fenómeno de protección es lo que se conoce como pasivación. La pasivación de un metal se puede definir como la pérdida de reactividad química bajo ciertas condiciones ambientales.<sup>(20)</sup>

Esta capa superficial es frágil y muy delgada (de aproximadamente  $30 \text{ \AA}$ ).

\* $1 \text{ \AA} = 10^{-8} \text{ cm}$ .

#### 2.3.4. DIAGRAMAS DE POTENCIAL – pH.

Los potenciales electroquímicos de los diferentes estados de óxido – reducción en una pila de corrosión se pueden graficar en función del pH de la solución. Estas gráficas se llaman Diagramas de Pourbaix, los cuales fueron desarrollados por el investigador belga Marcel Pourbaix para mostrar las condiciones del pH del electrolito y potencial electroquímico que son favorables para la corrosión de un metal.

En estos diagramas, los equilibrios existentes entre un metal y el agua a  $25^\circ\text{C}$  son representados por líneas que dependen del potencial, del pH o de ambos, delimitando así unas zonas termodinámicamente estables en donde el metal existe en alguna de sus formas (disuelto, como óxido, como hidróxido, como metal, etc.).

Los principales usos de estos diagramas son:

- a) Predecir si puede o no ocurrir la corrosión;
- b) Estimar la composición de los productos de corrosión formados;
- c) Predecir cambios ambientales que prevengan o reduzcan la corrosión.

Los diagramas de Pourbaix sólo ofrecen una descripción termodinámica del sistema metal – solución sin permitir la predicción de las velocidades de corrosión. En la Figura 2.3 se presenta un diagrama simplificado para el hierro expuesto al agua.

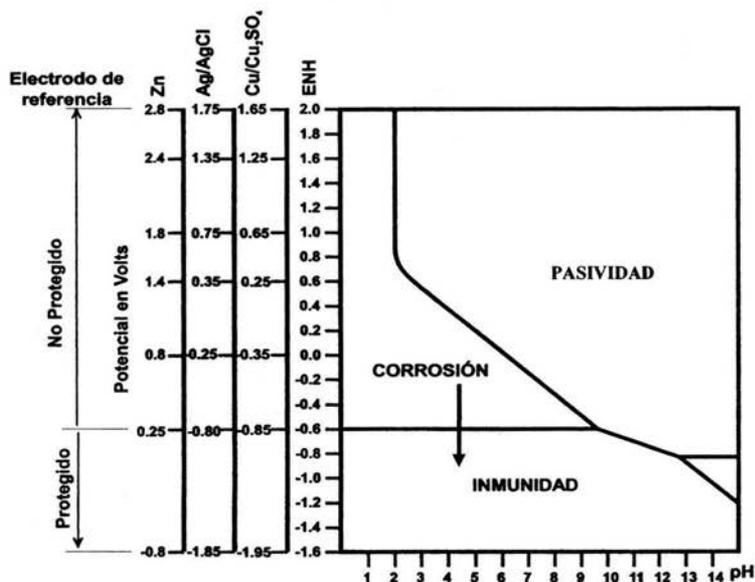


Figura 2.3. Diagrama de Pourbaix para el sistema acero al carbón-H<sub>2</sub>O a 25°C y 1 atm de presión indicando zonas de los distintos estados que puede tener el Fe de acuerdo a su potencial y su pH. <sup>(24)</sup>

### 2.3.5. CINÉTICA DE CORROSIÓN.

Si se demuestra que una reacción es posible, la termodinámica no dará ninguna idea acerca de la velocidad de la reacción. Para predecir la velocidad a la cual el metal se va a corroer se necesita incluir factores cinéticos. Lo que se busca de la cinética es que diga qué cantidad de metal por unidad de tiempo se está disolviendo en un medio dado, cuando este sistema esté desplazado de una situación de equilibrio. <sup>(21)</sup>

Cuando existe corriente entre el ánodo y el cátodo, los potenciales de ambos cambian. Este fenómeno, conocido como *polarización*, reduce la diferencia de potencial entre las dos medias celdas, como se muestra en la Figura 2.4, la pendiente de la curva de polarización es determinada por muchos factores, incluyendo la concentración de reactantes y productos, factores de pasividad, temperatura, etc.

En el punto de intersección de las dos curvas de polarización (ánodo y cátodo), un metal estará corroyéndose libremente. Un metal que se está corroyendo libremente toma un potencial llamado potencial de corrosión ( $E_{\text{corr}}$ ) y una densidad de corriente de corrosión ( $I_{\text{corr}}$ ) entre ánodo y cátodo (Figura 2.4). De la densidad de la corriente de corrosión es posible calcular la velocidad de corrosión en milésimas de pulgadas (mils) por año, si se pudiera medir.

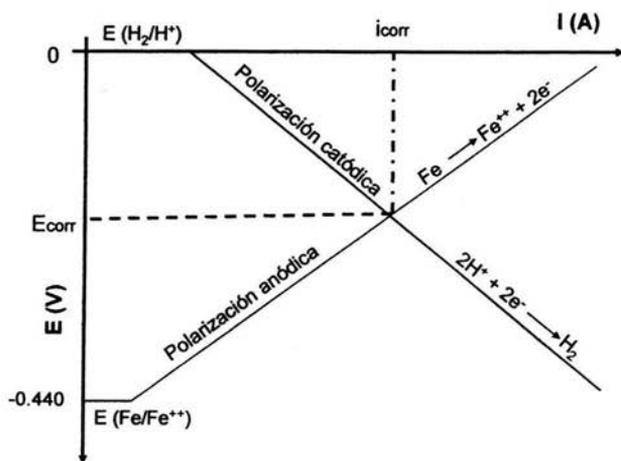


Figura 2.4. Potencial Mixto. <sup>(2)</sup>

### 2.3.6. TÉCNICAS ELECTROQUÍMICAS.

Aunque existen diferentes técnicas electroquímicas para poder evaluar la velocidad de corrosión, básicamente existen dos tipos: las que corresponden a *Corriente Directa* (DC) y las de *Corriente Alterna* (AC), tal y como se muestra en la Tabla 2.1.

Técnicas de Corriente Directa (DC)	Técnicas de Corriente Alterna (AC)
Resistencia a la Polarización ( $R_p$ )	Espectroscopia de Impedancia Electroquímica (EIS)
Extrapolación de Tafel	
Curvas de Polarización (Evans-Tafel)	
Ruido Electroquímico (EN)	

Tabla 2.1. Técnicas electroquímicas generales.

A continuación se describen brevemente cada una de estas técnicas, las cuales fueron utilizadas para la realización de esta investigación.

### 2.3.7. MÉTODO DE MEDIDA DE LA RESISTENCIA A LA POLARIZACIÓN ( $R_p$ ).

La Resistencia de Polarización,  $R_p$ , se define como la tangente a la curva de polarización en el potencial de corrosión,  $E_{\text{corr}}$ , Figura 2.5.

$$R_p = \left( \frac{dE}{dI} \right)_{I=0} \quad (\text{Ec. 2.8})$$

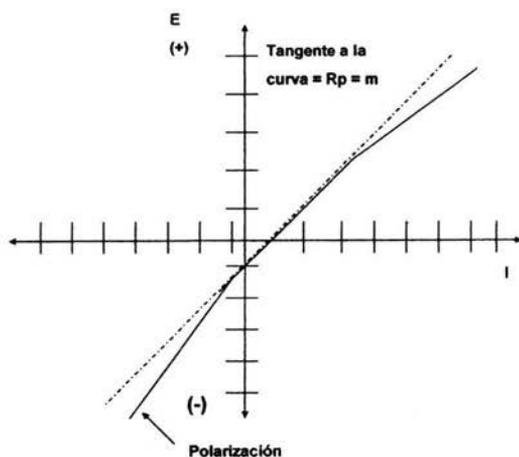


Figura 2.5. Representación esquemática de la Resistencia a la polarización.

En el caso de una reacción sencilla controlada por transferencia de carga, la  $i_{corr}$  (corriente de corrosión) está relacionada con la  $R_p$  por la ecuación de Stern-Geary:

$$i_{corr} = \frac{b_a b_c}{2.303(b_a + b_c)} \frac{\Delta I}{\Delta E} = \frac{B(cte)}{R_p} \quad (\text{Ec. 2.9})$$

donde  $b_a$  y  $b_c$  son las pendientes de Tafel de las reacciones anódicas y catódicas, respectivamente.

Si el proceso catódico está controlado por difusión ( $b_c \rightarrow \infty$ ), la ecuación anterior se reduce a:

$$i_{corr} = \frac{b_a}{2.303 R_p} \quad (\text{Ec. 2.10})$$

Esta técnica de corriente directa está soportada por la norma ASTM G59, en donde se establecen las aproximaciones experimentales para la determinación de la  $R_p$  a partir de un barrido potenciodinámico en las proximidades del  $E_{corr}$ , es decir,  $|\eta| = |E - E_{corr}| < \frac{RT}{F}$ .

Sin embargo, la evaluación de la  $i_{\text{corr}}$  a partir de la  $R_p$ , de acuerdo con las ecuaciones presentadas, presupone que el sistema en corrosión está caracterizado por una reacción sencilla, lo cual incluye los fenómenos dependientes del tiempo y del potencial, así como los procesos superpuestos.

Algunos factores que pueden influir en las medidas de la  $R_p$  son:

- En medio ácido, la adsorción de hidrógeno atómico en la superficie del metal en corrosión, y la absorción de  $H_2$  en el seno del mismo, pueden dar lugar a efectos de histéresis en las curvas de polarización, afectando entonces los valores medidos en la  $R_p$ .
- Las medidas de la  $R_p$  están también influenciadas por la adsorción de los productos intermedios de la reacción formados en el proceso de disolución anódica.
- En presencia de inhibidores, se puede obtener un comportamiento de polarización irreversible del sistema de corrosión, debido a los procesos redox y de adsorción.<sup>(18)</sup>

Ventajas	Desventajas
Velocidad de corrosión instantánea.	Es sólo para control activacional.
Técnica de bajo campo ∴ es no destructiva ( $\pm 10$ a $\pm 30$ mV).	Requiere pendientes de Tafel anódica y catódica.
Rápida.	No discierne contribuciones resistivas.
Es reproducible.	

Tabla 2.2. Ventajas y desventajas de la técnica de  $R_p$ .

### 2.3.8. MÉTODO DE EXTRAPOLACIÓN DE TAFEL.

La extrapolación de las pendientes de Tafel, anódica y catódica, correspondientes a una reacción de corrosión controlada por la transferencia de carga, permite determinar la densidad de corriente de corrosión,  $i_{corr}$ , en el potencial de corrosión,  $E = E_{corr}$ , tal y como se muestra en la Figura 2.6.

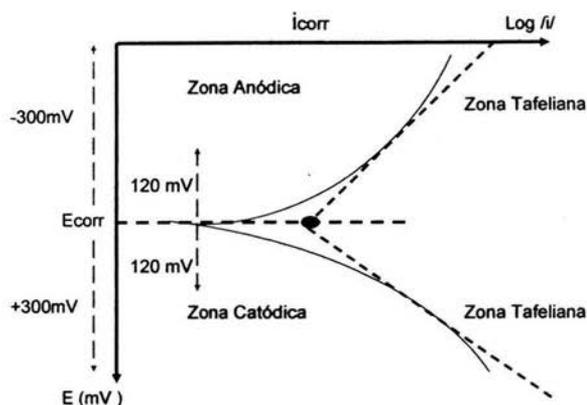


Figura 2.6. Diagrama representativo de la técnica de extrapolación de Tafel.

Las rectas de Tafel anódica y catódica están descritas por la ecuación de Tafel:

$$\eta = b \log \frac{i}{i_{corr}} \quad (\text{Ec. 2.11})$$

$$\eta = b (\log i - \log i_{corr}) \quad (\text{Ec. 2.12})$$

siendo "b" la pendiente de Tafel.

La ecuación anterior corresponde a la forma general  $y = mx + b$ . Luego, una representación gráfica de  $\eta$  vs.  $\log i$  debe ser una línea recta de pendiente “b” y ordenada en el origen “a”.

Las pendientes de Tafel anódica y catódica,  $b_a$  y  $b_c$ , pueden determinarse de las ramas anódica y catódica de la representación gráfica  $\eta$  vs.  $\log i$ . Por lo general, estas pendientes de Tafel se expresan en unidades de mV/década.

La ecuación de Tafel es una aproximación de la ecuación general de una reacción electroquímica controlada por el proceso de transferencia de carga, llamada ecuación de Butler – Volmer.

$$i = i_{corr} \left\{ \exp\left(\frac{\alpha n F \eta_a}{RT}\right) - \exp\left(\frac{-(1-\alpha)n F \eta_c}{RT}\right) \right\} \quad (\text{Ec. 2.13})$$

Para un  $\eta^* > 120$  mV, se tiene:

$$i = i_{corr} \exp\left(\frac{\alpha n F \eta_a}{RT}\right) \quad (\text{Ec. 2.14})$$

$$\log i = \log i_{corr} + \frac{\alpha n F \eta_a}{RT} \quad (\text{Ec. 2.15})$$

despejando -  $\eta_a$

$$\eta_a = \frac{RT}{\alpha n F} \log \frac{i}{i_{corr}} \quad (\text{Ec. 2.16})$$

$$\eta_a = b \log \frac{i}{i_{corr}} \quad (\text{Ec. 2.17})$$

El método está basado en la teoría electroquímica de los procesos de corrosión desarrollada por Wagner y Traud.

Una de las consideraciones que se deben de tomar en cuenta en la obtención de las curvas de polarización es la correcta aplicación de la velocidad de barrido. Tal y como lo establece Siebert, la obtención de las curvas de polarización anódicas pueden generarse a partir de dos métodos electroquímicos, sin embargo, la diferencia entre ellos difiere tan solo en la velocidad del cambio del potencial eléctrico aplicado, por ello la necesidad de caracterizar la velocidad de barrido. <sup>(18)</sup>

Ventajas	Desventajas
Velocidad de corrosión instantánea.	Es sólo para control activacional.
Rápida.	Obtención gráfica de las pendientes de Tafel.
Es reproducible.	Técnica de alto campo ( $\pm 200$ a $\pm 300$ mV) $\therefore$ es destructiva.

Tabla 2.3. Ventajas y desventajas de la técnica de Tafel.

### 2.3.9. TÉCNICA DE ESPECTROSCOPÍA DE IMPEDANCIA ELECTROQUÍMICA (EIS).

La EIS se puede definir como una técnica electroquímica donde una señal de corriente alterna es usada, se manda un estímulo (potencial, corriente) bajo una cierta amplitud de señal y se registra la respuesta a dicho estímulo. La técnica de EIS al emplear una señal de corriente alterna involucra variables como: magnitud, amplitud y una frecuencia característica que cambia respecto al tiempo.

Esta técnica surge precisamente como consecuencia de que las reacciones electrónicas no son sólo de carácter resistivo, sino que tienen componentes capacitivos que deben tomarse en cuenta. Un ejemplo de la combinación de la acción de estos dos tipos de componentes y reacciones es la combinación de una reacción de corrosión y una doble capa. El proceso de transferencia electrónica puede ser representado por un resistor mientras que la doble capa responde igual que un capacitor en una señal de corriente alterna de potencial. <sup>(24)</sup>

Para poder explicar el tipo de información que se puede obtener de esta técnica, hay que empezar por introducir el significado físico y el uso de números complejos que son importantes para interpretar los datos y crear modelos a partir de EIS.

La corriente directa puede ser vista como un caso particular de la corriente alterna cuando la frecuencia es cero. Bajo estas condiciones, la ley de Ohm puede ser escrita como:

$$V=IR \quad (\text{Ec. 2.18})$$

En este caso, la resistencia, R, está compuesta por uno o más resistores. Cuando la frecuencia es diferente de cero, por ejemplo, al haber una corriente alterna, la ley Ohm se expresa como:

$$V=IZ \quad (\text{Ec. 2.19})$$

Bajo estas condiciones, la resistencia Z, es ocasionada por todos los elementos que puedan impedir el flujo de corriente como resistores, inductores y capacitores. El valor de la resistencia que oponen los capacitores e inductores depende de la frecuencia, mientras que el de un resistor no depende de ella.

La utilización de senos y cosenos es complicada matemáticamente. Sin embargo, el análisis vectorial provee una manera conveniente para describir los circuitos. Las relaciones entre ese análisis vectorial y los números imaginarios proveen las bases para entender EIS. Un voltaje o una corriente senoidal pueden ilustrarse como un vector que rota como se muestra en la Figura 2.7.

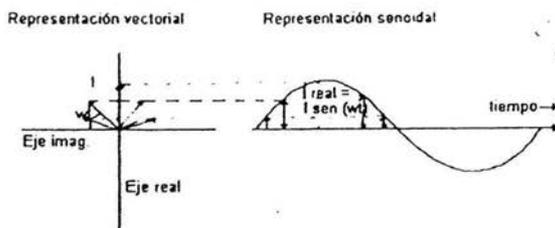


Figura 2.7. Relación entre una corriente AC y la representación de vector rotante.

El potencial puede ser esquematizado de la misma manera que la corriente, con su propia amplitud y de la misma velocidad de rotación,  $\omega$ . Como se aprecia en la Figura 2.8 (a), cuando la corriente está en fase con el voltaje, ambos vectores coinciden y rotan juntos. Esta es la respuesta característica de un circuito que solo contiene un resistor. Cuando la corriente y el voltaje están fuera de fase (Figura 2.8 (b)), los vectores rotan juntos a la misma frecuencia, pero están desfasados por un ángulo llamado ángulo de fase  $\theta$ .

Esta respuesta es característica de un circuito que contiene capacitores e inductores en adición a los resistores.

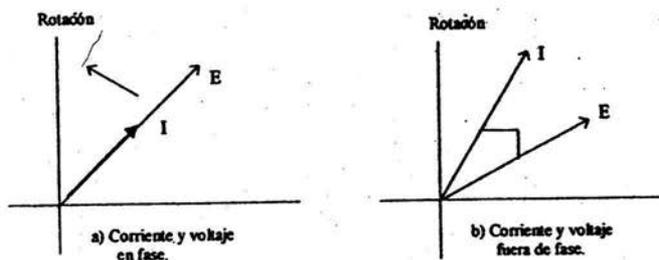


Figura 2.8. Rotación de los vectores (a) en fase y (b) fuera de fase. <sup>(24)</sup>

En la medición de impedancia en AC, un vector es visto usando a los otros como un sistema de coordenadas. De esta manera, el punto de referencia gira sin que sea vista la dependencia del tiempo  $\omega t$  de las señales. Así, los vectores de corriente y voltaje están referidos al mismo sistema de coordenadas. El vector voltaje se divide entre el vector de la corriente para dar el de impedancia que se muestra en la Figura 2.9.

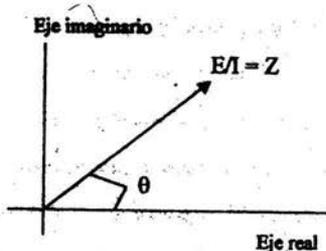


Figura 2.9. Vector impedancia. <sup>(24)</sup>

La convención matemática para separar la parte real de la imaginaria es multiplicar la parte imaginaria por  $j$  y reportar los valores reales e imaginarios por separado. Las ecuaciones para impedancia son entonces:

$$E = E_{\text{real}} + E_{\text{imaginario}} = E' + JE'' \quad (\text{Ec. 2.20})$$

$$I = I_{\text{real}} + I_{\text{imaginario}} = I + JI'' \quad (\text{Ec. 2.21})$$

$$Z = Z' + Z'' = (E' + JE'') / (I' + JI'') \quad (\text{Ec. 2.22})$$

$$\tan \phi = Z'' / Z' \quad (\text{Ec. 2.23})$$

$$|Z| = [(Z')^2 + (Z'')^2]^{1/2} \quad (\text{Ec. 2.24})$$

El objetivo de usar la técnica de impedancia es obtener  $Z$ ,  $Z'$  y  $Z''$  y usar circuitos simples para modelar la respuesta. Si la amplitud de la excitación es del orden de 10 mV o menos, se puede asumir que la respuesta involucra arreglos lineales de resistores, capacitores e inductores.

Para poder interpretar los datos y determinar los elementos de un circuito equivalente, se recurre a los diagramas de Nyquist y Bode.

**Diagramas de Nyquist.** Es una representación de  $Z'$  vs.  $Z''$ , la cual da información acerca de la resistencia óhmica del sistema,  $R_s$ , y la resistencia a la polarización,  $R_t$  o  $R_p$ , la cual es de gran utilidad para determinar la velocidad de corrosión de manera indirecta.

Los procesos sencillos de transferencia de carga dan una semicircunferencia sobre el eje de las abscisas o eje real, mientras que para procesos más complicados presentan dos o más circunferencias. En el límite de las frecuencias altas, la intersección de la curva con el eje  $Z'$  corresponde al valor de la resistencia de la disolución,  $R_s$ , y el centro del semicírculo es igual a  $R_s + R_t/2$ , es decir, el diámetro de la circunferencia es igual a la resistencia de transferencia de carga.

Luego, en el máximo de la semicircunferencia  $1/\omega CdL = R_t$ , permite calcular la capacidad de la doble capa, Figura 2.10.

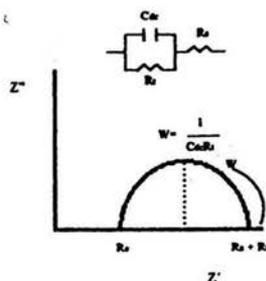


Figura 2.10. Diagrama de Nyquist para un sistema de transferencia de carga simple. <sup>(24)</sup>

Cuando la reacción está controlada por transferencia de carga y por difusión, aparece una impedancia de Warburg. A frecuencias bajas se origina una línea recta de pendiente igual a la unidad, Figura 2.11.

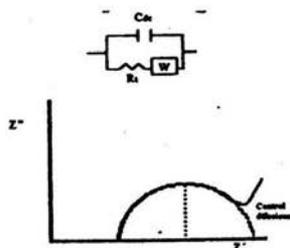


Figura 2.11. Diagrama de Nyquist para un sistema controlado por transferencia de carga y por difusión. <sup>(24)</sup>

La velocidad de una reacción electroquímica puede estar influenciada por la difusión de alguna sustancia hacia adentro o de un producto hacia fuera de la superficie del electrodo en estudio. Esta situación ocurre más a menudo cuando la superficie del electrodo está cubierta con

productos de la reacción, componentes de la solución que se absorben o recubrimientos preparados. A la impedancia para la cual dominan los efectos de difusión se le llama impedancia de Warburg.

Si el proceso de corrosión lleva consigo la formación de la película superficial, el circuito equivalente es más complicado e incluye una pseudo capacidad o pseudo inductancia, originada por la dependencia del recubrimiento con el potencial. Este “loop” inductivo es debido al posible efecto de la película sobre los efectos faradaicos, Figura 2.12.

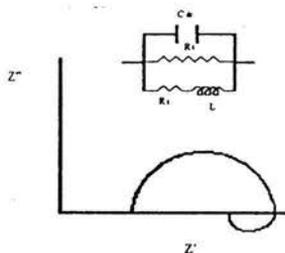


Figura 2.12. Diagrama de Nyquist para un sistema controlado por transferencia de carga y por adsorción de especies. <sup>(24)</sup>

**Diagrama de Bode.** Es la variación del módulo de la impedancia,  $Z$  con respecto a la frecuencia, generalmente graficado en escala logarítmica. La presencia de resistencias en el circuito provoca mesetas, mientras que los capacitores arrojan pendientes negativas. Estos diagramas también ofrecen información acerca de  $R_s$  y  $R_t$  a altas y bajas frecuencias, Figura 2.13.

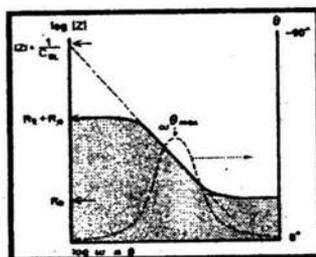


Figura 2.13. Diagrama de Bode para un sistema electroquímico sencillo. <sup>(24)</sup>

**Circuito Equivalente.** Es una herramienta que permite apreciar la variación de la impedancia de una celda electroquímica con la frecuencia y consiste de una combinación de elementos característicos de un circuito eléctrico que se comporta de una manera similar al proceso electroquímico estudiado. Este circuito fue propuesto por Randles, y se ha encontrado que tiene aplicación en muchos sistemas electroquímicos y de corrosión, Figura 2.14.

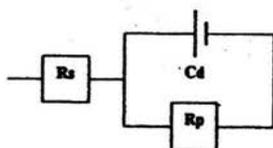


Figura 2.14. Circuito equivalente simple tipo Randles. <sup>(24)</sup>

Donde  $R_s$  representa la resistencia del electrolito, la combinación en paralelo del resistor  $R_p$  y el capacitor  $C_d$  representan la corrosión en la intercara metal-electrolito, en donde  $C_d$  es la capacitancia de la doble capa electroquímica y  $R_p$  es la resistencia a la transferencia de carga. Esta última cantidad determina la velocidad de corrosión, y es una medida de la transferencia de electrones que atraviesan la superficie. <sup>(24)</sup>

Ventajas	Desventajas
Discierne contribuciones resistivas.	Difícil de interpretar resultados.
Da informes mecánicos.	Es lenta y cara.
Técnica de bajo campo ( $\pm 20$ mV) $\therefore$ es no destructiva.	No es tan reproducible.
Se obtiene velocidad de corrosión instantánea.	Sólo se utiliza para electrolitos altamente conductores.

Tabla 2.4. Ventajas y desventajas de la técnica de Impedancia.

## 2.4. TIPOS DE CORROSIÓN.

La corrosión toma muchas formas, dependiendo del metal y del medio ambiente en que se encuentre, y el proceso de corrosión bajo el cual se crea el daño. Entre los tipos más comunes se pueden encontrar:

### 2.4.1. CORROSIÓN GALVÁNICA O BIMETÁLICA.

Ocurre cuando están en contacto eléctrico dos metales distintos expuestos a soluciones corrosivas o atmosféricas húmedas. Las dos reglas generales de este tipo de corrosión son: 1) cuando se conectan metales distintos, uno de ellos se comportará como ánodo y otro como cátodo, 2) la corrosión galvánica es directamente proporcional a la diferencia de potencial. Es sumamente perjudicial una relación entre una gran área catódica y un área anódica pequeña <sup>(15)</sup>.

### **2.4.2. CORROSIÓN UNIFORME O GENERAL.**

Es caracterizada por una reacción química que ocurre de manera uniforme sobre la superficie expuesta. Los sitios anódico y catódico cambian constantemente, de esta manera la corrosión se extiende uniformemente sobre la superficie del metal. A menudo es asociada con corrosión atmosférica y alguna oxidación a alta temperatura o reacción por sulfuración <sup>(15)</sup>

### **2.4.3. CORROSIÓN LOCALIZADA.**

Este ataque actúa sólo en determinadas áreas de superficie. Tiende a profundizar mucho más rápidamente que la corrosión generalizada, pudiendo ser en extremo peligroso, ya que puede conducir al fallo prematuro de una pieza. <sup>(16)</sup>

Dentro de la corrosión localizada se encuentran los siguientes tipos de corrosión:

### **2.4.4. CORROSIÓN POR PICADURAS.**

Puede definirse como un tipo de corrosión localizada en el que el ataque se manifiesta, como su nombre lo indica, en forma de picaduras estrechas y profundas. El mecanismo de ataque consta de un periodo de iniciación de la picadura debido a heterogeneidades, algún daño metálico, o a diferencias de composición en la solución, etc. una vez iniciada la picadura, se forma una zona anódica en la parte del metal desnudo y como cátodo el metal pasivo, generándose una diferencia de potencial muy grande. <sup>(16)</sup>

#### **2.4.5. CORROSIÓN EN GRIETAS O HENDIDURAS.**

Se presenta en uniones de piezas metálicas, en rendijas, debajo de arandelas, tuercas o remaches, o debajo de depósitos (óxidos o impurezas) u objetos localizados sobre la superficie metálica. Es, en cierta medida, otra forma de corrosión localizada que generalmente ocurre cuando en la unión de los materiales (metal/metal, metal/pintura, etc.) existen espacios vacíos a los cuales no puede llegar el oxígeno. <sup>(16)</sup>

#### **2.4.6. CORROSIÓN INTERGRANULAR.**

Todos los metales de uso práctico están formados por cristales que forman regiones cristalinas o granos, los cuales están orientados al azar. La corrosión intergranular es una forma de ataque localizado en el borde de grano o regiones adyacentes.

El ataque se presenta cuando el borde de grano es anódico respecto al grano y se forma una pequeña área anódica frente a una extensa área catódica (similar a los efectos de área de la corrosión galvánica). <sup>(16)</sup>

#### **2.4.7. CORROSIÓN BAJO ESFUERZO.**

Esta es otra forma de ataque localizado; sin embargo se requieren de dos factores fundamentales: la presencia de un medio corrosivo específico y la presencia de esfuerzos de tensión, ya sea aplicados o residuales en el material. <sup>(16)</sup>

#### **2.4.8. CORROSIÓN – FATIGA.**

Es una forma muy parecida a la corrosión bajo esfuerzo, con la diferencia de que los esfuerzos que lo provocan son de tipo cíclico y pueden ser introducidos por procesos térmicos o mecánicos. <sup>(16)</sup>

#### **2.4.9. CORROSIÓN SELECTIVA.**

Es la remoción selectiva de un elemento (generalmente el menos noble) de una aleación por el ambiente corrosivo, esto ha sido llamado “separación” o “desaleación”. Puede ocurrir en forma de orificio o en un tipo de capa más uniforme. Las condiciones de estancado y regiones bajo depósitos conducen a este tipo de corrosión. <sup>(21)</sup>

#### **2.4.10. CORROSIÓN MICROBIOLÓGICA.**

Este tipo de corrosión es generado por microorganismos de diferentes variedades, los cuales actúan de una manera sinérgica. De tal forma que el proceso metabólico bacteriano origina o acelera la destrucción de los metales. <sup>(16)</sup>

Debido a que en este trabajo el objetivo principal es evaluar la susceptibilidad de un acero API X65 frente a la corrosión microbiana, se hará énfasis en ésta.

## 2.5. CORROSIÓN MICROBIOLÓGICA.

### 2.5.1. DEFINICIÓN.

La *corrosión microbiológica ó corrosión microbiológicamente influenciada* (MIC) incluye todo fenómeno de destrucción en el cual los microorganismos, actúan directamente utilizando al metal como sustrato o indirectamente por medio de las sustancias provenientes de su metabolismo, las bacterias desempeñan un papel importante al acelerar el proceso de corrosión ya establecido o al crear las condiciones favorables para que se produzca dicho fenómeno. <sup>(21)</sup>

### 2.5.2. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA CORROSIÓN MICROBIOLÓGICA.

Los factores que influyen principalmente son de tres tipos: <sup>(10)</sup>

- A) Estado en que se encuentra el material.
- B) Composición del medio.
- C) Acción microbiana.

#### 2.5.2.1. ESTADO EN EL QUE SE ENCUENTRA EL MATERIAL.

La estructura, las alteraciones de la superficie (por mínimas que éstas sean) o el deterioro mecánico que presenta el metal corresponden a factores que permiten que se inicie el proceso de corrosión. Y posteriormente se observa la acción que desempeñan las bacterias. <sup>(10)</sup>

#### 2.5.2.2. COMPOSICIÓN DEL MEDIO.

1. La **composición química** del agua desempeña una función de primer orden. El contenido de oxígeno y de gas carbónico en ésta llevará a la formación de óxidos y de carbonatos, especialmente en los puntos que presentan deterioro. Además, el oxígeno favorecerá el

desarrollo de los microorganismos aerobios y el gas carbónico servirá como fuente de carbono a las bacterias autótrofas.

La presencia de iones minerales, nitrógeno, fósforo, azufre, hierro, manganeso, calcio, etc., en forma de nitratos, fosfatos, sulfato o sulfuros, aportará los elementos necesarios para el crecimiento de los microorganismos, utilizándolos para su propia síntesis o de la transformación de éstos obtendrán la energía necesaria para su metabolismo. <sup>(10)</sup>

2. **Temperatura.** Cada microorganismo tiene una temperatura óptima en la cual su desarrollo se favorece, dicha temperatura se encuentra por lo general alrededor de 22 a 30 °C, para las bacterias promotoras de la corrosión. <sup>(10)</sup>
3. **pH.** Este desempeña una función importante. La acidez o la alcalinidad del medio tiene al principio una acción directa sobre el metal y luego, de acuerdo con el grado que presentan, favorecen o inhiben el desarrollo de las bacterias. En general, el pH óptimo se encuentra alrededor de la neutralidad. No obstante, ciertas bacterias, como por ejemplo los Thiobacillus, se adaptan muy bien a un pH próximo a 1. Además dichas bacterias al “secretar” ácido sulfúrico consiguen cambiar de manera significativa el pH del medio, que se vuelve entonces muy corrosivo para el metal. <sup>(10)</sup>
4. **Luz.** La luz condiciona el desarrollo de las bacterias fotolitótrofas, y, asimismo, de las fotoorganótrofas. <sup>(10)</sup>

#### 2.5.2.3. ACCIÓN MICROBIANA.

Los microorganismos producen y excretan sustancias corrosivas, originadas en su crecimiento o metabolismo, que transforman un medio originalmente inerte en agresivo. <sup>(10)</sup>

### 2.5.3. MICROORGANISMOS INVOLUCRADOS EN EL PROCESO DE CORROSIÓN.

Además de las bacterias, es preciso citar:

*Los Hongos.* Se trata de organismos heterótrofos que pueden causar importantes daños provocados por sus actividades enzimáticas, las cuales se manifiestan por el deterioro biológico de los derivados celulósicos o plásticos, de cuyos productos pueden hacerse cargo algunas bacterias. Por lo que estos organismos proporcionan la materia orgánica necesaria para el crecimiento de los otros organismos; provocan la formación de limo y además, secretan en el medio numeroso ácido orgánico.

*Las Algas.* Son organismos autótrofos que se desarrollan en presencia de la luz. Estos organismos desempeñan un papel importante en el fenómeno de la corrosión, puesto que favorecen el desarrollo de ciertas bacterias quimiorganótrofas. Los desechos producidos por éstas, así como también sus propios cuerpos muertos, proporcionan al medio una cantidad de elementos nutritivos suficientes para acelerar la proliferación de las bacterias heterótrofas. De este modo, las algas conducen a la formación de lodos o sedimentos que favorecen el desarrollo de las bacterias anaerobias. También las algas secretan enzimas que atacan numerosos substratos, madera, papel, etc., y que pueden asimismo metabolizar sustancias ácidas corrosivas.

De los microorganismos capaces de destruir materiales se encuentran en mayor medida las bacterias. La interacción bacteriana con metales tecnógenos o antropógenos (hechos por el hombre) utilizados en la industria de la construcción puede causar verdaderos desastres, principalmente en las tuberías, estructuras y equipo en general de las instalaciones industriales que trabajan con agua proveniente de diversos tipos (mares, ríos, lagos, etc.). En tales condiciones es prácticamente

inevitable la presencia de bacterias. Estudios recientes han mostrado que las bacterias presentes en la corrosión pertenecen a los grupos de: *FERROBACTERIAS*, *SULFOBACTERIAS* Y *SULFATORREDUCTORAS*.

Las *Ferrobacterias* o *bacterias oxidantes del hierro* son organismos que metabolizan el ión ferroso presente en el medio a ión férrico que se deposita en la superficie generalmente como hidróxido férrico hidratado, el cual aparece como una especie de secreción de consistencia mucilaginosa. Algunas de estas bacterias “particulares” tienen sitios apropiados para su proliferación, ya sea en regiones mineras, otras se encuentran altamente distribuidas en la naturaleza, el suelo, agua, aire, hay ciertas especies que solo proliferan en el agua de mar.

Las *Sulfobacterias* utilizan el ácido sulfhídrico y en general las formas reducidas del azufre para su metabolismo. La luz es necesaria para su desarrollo y se les encuentra en la naturaleza, donde existan sulfuros. Tienen una acción limitada en lo que se refiere a la corrosión. A pesar de ello ocasiona perjuicios que no pueden pasarse por alto, como son la formación de lodo en el interior de las tuberías, la modificación del pH del medio, etc.

Las *Bacterias Sulfatorreductoras (SRB)* son heterótrofas anaerobias que requieren compuestos orgánicos como fuente de carbono y energía. Usan sulfatos como aceptor de electrones con la consiguiente producción de sulfuro de hidrógeno. Las SRB están distribuidas en suelos, agua marina, agua fresca y sedimentos lodosos. La corrosión influenciada por estas bacterias prevalece en ambientes y condiciones favorables. <sup>(10), (2)</sup>

A continuación se presenta la clasificación en familias y géneros de bacterias involucradas en la corrosión.

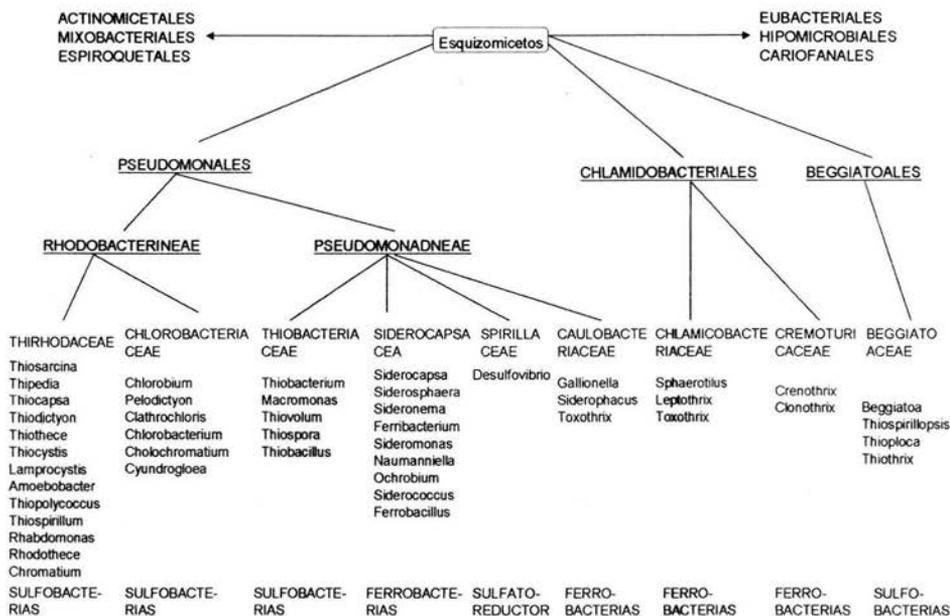


Figura 2.15. Esquema taxonómico de las bacterias de la corrosión. <sup>(10)</sup>

### 2.5.4. MECANISMO DE LA CORROSIÓN MICROBIOLÓGICA.

El mecanismo de acción de MIC sobre los materiales en estudio aún no se encuentra totalmente esclarecido. La aparición de la corrosión se debe a diversos fenómenos en conjunto; al mecanismo de reacciones de óxido-reducción que se producen en la interfase metal-solución, la acción física de los microorganismos que forman la biocapa y ésta, en su metabolismo genera productos oxidantes agresivos.

La MIC de materiales metálicos no involucra ninguna nueva forma de corrosión. Las formas en que los microorganismos pueden incrementar la velocidad de corrosión de metales y/o la susceptibilidad a la corrosión localizada en un ambiente acuoso en relación a los mecanismos conocidos de corrosión son:

1. *Formación de celdas de concentración a la superficie del metal y en particular celdas de concentración de oxígeno.* Este efecto puede ocurrir cuando un biofilm o crecimiento bacterial se desarrolla heterogéneamente sobre la superficie del metal. Las celdas de concentración se asocian también con los tubérculos formados por la bacteria oxidante del hierro, tal como la *Gallionella*. Ciertas bacterias también pueden atrapar metales pesados como cobre y cadmio dentro de sus sustancias poliméricas extracelulares, resultando en la formación de celdas de concentración iónicas.
2. *Modificación de inhibidores de corrosión.* A este grupo pertenecen microorganismos que pueden destruir inhibidores de corrosión tales como bacterias que transforman el nitrito (inhibidor de corrosión para el hierro y acero suave) al nitrito o nitrato (inhibidor de corrosión para el aluminio y aleaciones de aluminio) a nitrito y amoníaco.
3. *Producción de metabolitos corrosivos.* Las bacterias pueden producir diferentes metabolitos, tales como ácidos inorgánicos (eg., T. Thiooxidans), ácidos orgánicos (casi todas las bacterias, algas, y hongos), sulfuro (bacterias sulfatorreductoras), y amoníaco, que son corrosivos a materiales metálicos.
4. *Destrucción de capas protectoras.* Varios microorganismos pueden atacar recubrimientos orgánicos, y esto puede llevar a la corrosión del metal recubierto.

5. *Estimulación de reacciones electroquímicas.* Un ejemplo de este tipo de acción es la evolución del hidrógeno catódico del sulfuro de hidrógeno producido microbiallymente.
6. *Fragilización por Hidrógeno.* Los microorganismos pueden influir en la fragilización por hidrógeno sobre metales al actuar como una fuente de hidrógeno y/o mediante la producción del sulfuro de hidrógeno. <sup>(22)</sup>
7. *Estancamiento de equipos.* Algunas bacterias producen limo o masas mucosas blancas, amarillas, rojas, cafés o negras, y en presencia de algas se pueden observar masas verdes. Estas masas limosas causan taponamiento de filtros, pozos de inyección, equipos y líneas de agua, instalaciones completas, etc. <sup>(2)</sup>

En resumen, todos los casos conocidos de MIC de metales se pueden atribuir a mecanismos conocidos de corrosión.

#### **2.5.5. CORROSIÓN BAJO CONDICIONES ANAEROBIAS.**

La reacción de desprendimiento de hidrógeno difícilmente puede ocurrir en un pH cercano a la neutralidad, donde la diferencia del potencial entre el metal y el electrolito será demasiado pequeña para superar el sobrepotencial del hidrógeno. Sin embargo, los casos más frecuentes de corrosión anaeróbica del hierro se desarrollan en condiciones tales que no serían posibles desde el punto de vista puramente electroquímico. A partir del trabajo de von Wolzogen Kühr y van der Vlugt, comenzó a asociarse a las bacterias reductoras de sulfatos con los procesos de corrosión anaeróbica del hierro (ver Figura 2.16). <sup>(2)</sup>

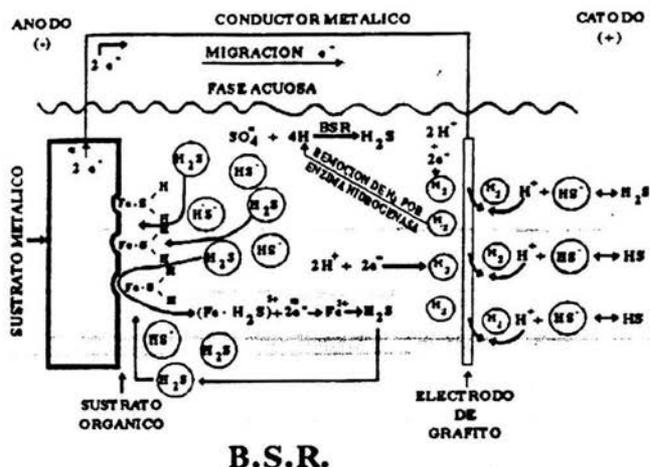


Figura 2.16. Corrosión anaerobia por bacterias sulfatorreductoras. <sup>(2)</sup>

### 2.5.6. CORROSIÓN BAJO CONDICIONES AEROBIAS.

*Corrosión por aireación diferencial.* Una de las formas de corrosión más frecuentes es la originada por la existencia de variaciones en la concentración de oxígeno o de iones en la superficie metálica, la cual ocasiona corrientes localizadas. Si un microorganismo se sitúa en un sustrato metálico, se crea una celda de aireación diferencial entre las partes de la estructura donde el oxígeno es consumido por las bacterias y aquellas donde la concentración de oxígeno se modifica. Las zonas sin oxígeno se comportan anódicamente respecto a las restantes, y son centros de ataque del metal.

Una de las formas de corrosión más frecuentes asociadas a este tipo de mecanismo es el que corresponde a la formación de tubérculos en el interior de tuberías, cuyos responsables son los microorganismos oxidantes del hierro del tipo de las bacterias del género *Gallionella*, que oxidan el ión ferroso en solución a ión férrico ocasionando la precipitación del hidróxido férrico que forma tubérculos (ver Figura 2.17). <sup>(2)</sup>

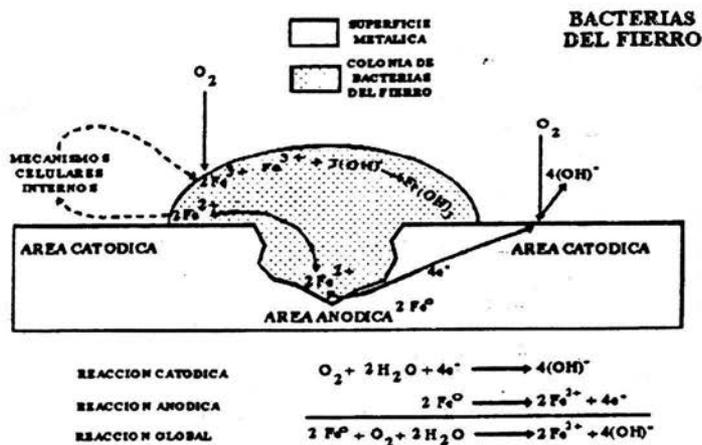


Figura 2.17. Corrosión aerobia. Aireación diferencial. <sup>(2)</sup>

### 2.5.7. ACCIÓN DE LAS FERROBACTERIAS EN LA CORROSIÓN.

Las *Ferrobacterias* obtienen la energía necesaria para su síntesis a partir de la transformación de las sales ferrosas en sales férricas. Ahora bien, en las tuberías de metal ferroso y en un punto de la superficie no protegido o alterado, el cual se encuentra en contacto con el agua, siempre ocurre un ataque del metal que da lugar a la formación de hidróxido ferroso.

En condiciones normales el hidróxido ferroso en esas tuberías rápidamente se transforma en hidróxido férrico y en carbonato gracias al oxígeno y al gas carbónico disuelto. En general, el fenómeno se detiene ahí.

La presencia de ferrobacterias en el punto en que el metal ha sufrido el ataque va a ocasionar la movilización de los iones ferrosos y su transformación en sales férricas. Esto se produce con rapidez siempre que el medio contenga iones ferrosos. De esta manera se observa la

formación de densas masas de “herrumbre” conteniendo los cuerpos bacterianos, a esa formación sigue la disolución ininterrumpida del metal. <sup>(10)</sup>

#### 2.5.8. ACCIÓN DE LAS SULFOBACTERIAS EN LA CORROSIÓN.

Estas bacterias metabolizan el azufre a partir de compuestos azufrados reducidos y los expulsan al ambiente o lo almacenan dentro de su célula, o bien, lo oxidan lo mismo que sus compuestos, con formación de productos ácidos ( $H_2SO_4$ ).

En el primero de estos casos habrá una formación de lodos y en el segundo se producirá una acidificación corrosiva con modificación importante del pH del medio.

Otros fenómenos importantes, aún indeterminados en MIC son:

- a) Las bacterias anaerobias se pueden presentar en tubérculos en ambientes aireados porque el interior del tubérculo será deficiente en oxígeno.
- b) Las capas de sulfuro pueden corroer directamente el acero, dependiendo de las concentraciones y la estequiometría del sulfuro.

La Figura 2.18 pone en evidencia todas las reacciones debidas a las ferrobacterias y a las bacterias sulfatorreductoras; pero las reacciones provocadas por las sulfobacterias no intervienen directamente en el proceso de corrosión, aunque sí modifican el medio ambiente. <sup>(10)</sup>

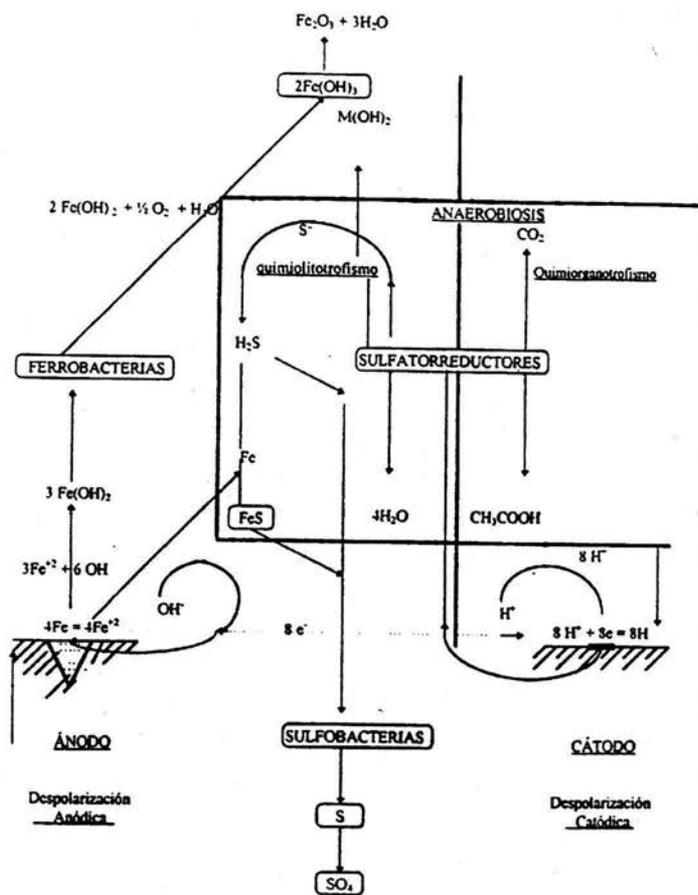


Figura 2.18. Ciclo de la corrosión microbiológica. <sup>(10)</sup>

### 2.5.9. ACCIÓN DE LAS BACTERIAS SULFATORREDUCTORAS (SRB) EN LA CORROSIÓN.

Puesto que estas bacterias son anaerobias obligadas, se les encontrará bajo las capas de herrumbre que se halla en contacto con el metal, ahí donde no llega el oxígeno, más adelante se verá mediante qué mecanismo. Estas bacterias transforman los sulfatos en ácido sulfhídrico ( $H_2S$ ), el cual se combinará con las sales ferrosas para dar un sulfuro negro.

La corrosión atribuida a SRB está siempre localizada en hoyos. Algunas características son:

1. Los hoyos se llenan generalmente con producto de corrosión negro, el cual, cuando se trata con ácido clorhídrico libera sulfuro de hidrógeno gaseoso.
2. Las superficies metálicas debajo de los productos de corrosión son por lo regular clara y activas.
3. Los hoyos son redondos en la superficie, y cónicos en la sección transversal, con círculos concéntricos en el interior del hoyo. <sup>(10)</sup>

#### 2.5.9.1. FORMACIÓN DE VESÍCULAS GELATINOSAS.

La vesícula gelatinosa se presenta con el aspecto de una masa de color pardo amarillento, temblorosa cuando se halla recién formada. Los contornos de esta masa por lo general son claros y lisos. En las vesículas viejas la superficie es arrugada, dura, y las vesículas mismas ya han perdido su consistencia gelatinosa.

Las vesículas contienen un líquido negruzco que tiene un fuerte olor a ácido sulfhídrico, aunque cuando son de reciente formación no presentan esta particularidad.

Las masas gelatinosas cubren una corrosión en forma de cráter y a menudo una picadura; que constituyen el asiento de nidos de bacterias, de ferrobacterias en la parte superficial y de bacterias sulfatorreductoras en la parte interna de la tubería, lo que prueba de esta manera la acción que tienen en la corrosión.

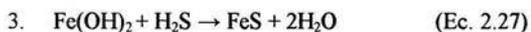
Desde el principio los iones ferrosos formados en el ánodo comienzan a transformarse en hidróxido férrico, por oxidación, y forman una capa de herrumbre que poco a poco se impregnará de sales ferrosas que van a difundirse hacia la superficie.

En condiciones de aerobiosis, las sales ferrosas que utilizan las ferrobacterias pronto se transforman en hidróxido férrico y debido a ello la masa aumenta de volumen. El oxígeno encontrará cada vez mayores dificultades para llegar hasta el interior y el desarrollo aerobio de las ferrobacterias no se efectuará entonces sino en la capa periférica que se formará con sales férricas y con ferrobacterias.

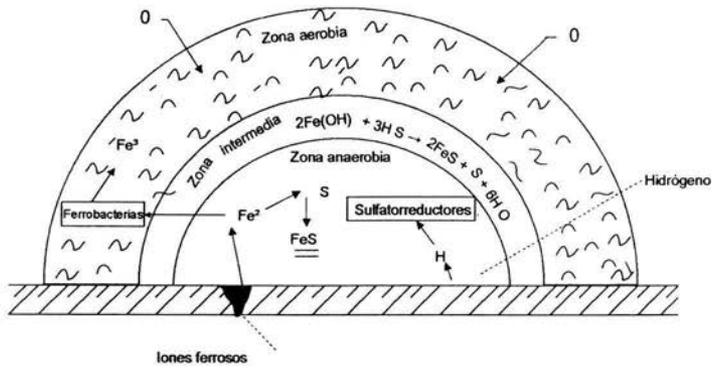
De esta manera, el proceso va a crear en la capa subyacente condiciones de anaerobiosis obligada que son favorables para el desarrollo de las bacterias sulfatorreductoras.

Como ya se ha señalado antes, los sulfatos se reducirán para transformarse en ácido sulfhídrico.

En el interior de la vesícula se producirán por tanto tres tipos de reacciones:



Al llegar a esta etapa del proceso se formarán compuestos azufrados, como por ejemplo, S – FeS – FeS<sub>2</sub>, que ocupan un volumen mucho menor que los hidróxidos de hierro hidratados, debido a lo cual se produce una especie de contracción interna que provoca la formación de una cavidad que contiene un líquido negruzco con olor a ácido sulfhídrico (Figura 2.19).<sup>(10)</sup>



VESÍCULA GELATINOSA

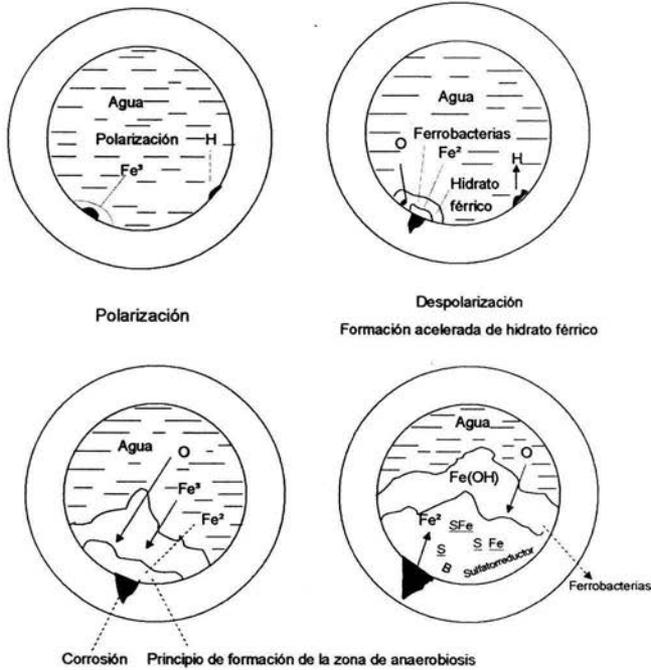


Figura 2.19. Formación de una vesícula gelatinosa. <sup>(10)</sup>

### 2.5.9.2. MECANISMOS DE LAS BACTERIAS SULFATORREDUCTORAS (SRB).

Existen diversas teorías para el mecanismo de la corrosión microbológica ocasionada por bacterias sulfatorreductoras (SRB).

*Teoría de la Despolarización Catódica.* Cuando la SRB metaboliza los nutrientes, los microorganismos pueden disponer de los electrones producidos por procesos metabólicos. En ambientes anaeróbicos, la SRB usa el ión sulfato como aceptor de electrones terminal, produciendo sulfuro de hidrógeno.

Entre los puntos en los que el metal presenta imperfecciones se forman diferencias de potencial las cuales provocan el paso de corriente a través del líquido que se encuentra entre esas diferentes partes del metal.

En las zonas anódicas, la corriente pasa del metal al líquido (Figura 2.20) y por el contrario en las zonas catódicas, la corriente pasa del líquido al metal. De este modo se observa una disolución del metal en el ánodo y la formación de hidrógeno en el cátodo.

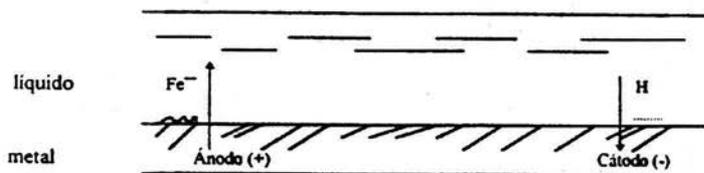


Figura 2.20. Esquema de la formación de elementos observados en la corrosión. <sup>(10)</sup>

En condiciones normales, al desprenderse el hidrógeno catódico, permanece suspendido en la superficie del metal, en forma de película, creando un potencial de oposición suficiente para neutralizar “la pila”. Este fenómeno corresponde a la *polarización*.

De esta manera al principio se produce una ligera corrosión anódica con disolución del hierro en forma de sales ferrosas que pronto se oxidan en sales férricas por efecto del oxígeno del agua.

Sin embargo, al polarizarse los elementos, la corrosión se suspende. En esta etapa del proceso se observa una ligera capa de herrumbre que no afecta al metal y dicho estado de equilibrio puede durar mucho tiempo, en tanto que el oxígeno no movilice el hidrógeno catódico.

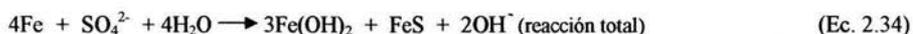
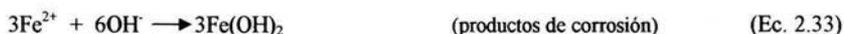
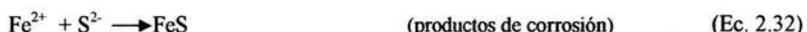
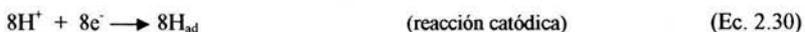
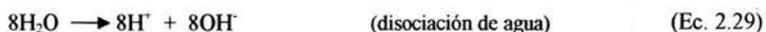
De hecho, toda sustancia o mecanismo que utilice el hidrógeno catódico despolarizará el sistema y la corrosión ocurrirá de nuevo. Es al llegar a esta etapa cuando intervienen las ferrobacterias y las bacterias sulfatorreductoras.

En la parte correspondiente al ánodo, las ferrobacterias obtienen su energía de la transformación de sales ferrosas en sales férricas y provocan la formación acelerada de herrumbre, con lo cual rompen en forma continua el equilibrio por despolarización anódica y catódica simultáneamente.

Este proceso produce la disolución continua del metal y llega hasta la perforación del mismo.

En la parte correspondiente al cátodo las bacterias sulfatorreductoras movilizan el hidrógeno y provocan una despolarización catódica. <sup>(10)</sup>

Por lo que se obtienen las siguientes reacciones:



La ecuación 2.34 representa la capacidad de la SRB para remover el hidrógeno adsorbido de la superficie del metal mediante la enzima hidrogenasa. Este proceso ha sido llamado despolarización catódica ó Teoría clásica de la despolarización. <sup>(22)</sup>

Además, otros factores importantes no son tomados en cuenta en esta teoría, como son: (a) los efectos del sulfuro, bisulfuro, y sulfuro de hidrógeno producido de la reducción de sulfato de la reacción anódica; (b) el efecto del sulfuro de hidrógeno sobre la reacción catódica; (c) el efecto del azufre elemental de la oxidación biótica y abiótica del azufre; (d) fluctuaciones en las condiciones ambientales entre condiciones anaeróbicas y aeróbicas; (e) la producción de otros metabolitos corrosivos. <sup>(22)</sup>

*Teoría de Corrosión de Hidrogenasa por SRB.* En 1979 Posgate sugirió que las SRB pueden remover directamente la capa de hidrógeno adsorbido a través de sus enzimas, hidrogenasas. Esta enzima se sabe está presente en todos los reductores de sulfato además de muchas otras especies microbianas. Se cree que la hidrogenasa actúa como un catalizador biológico en la reducción de sulfato por hidrógeno en sitios catódicos sobre la superficie del metal. El oxígeno libre del radical sulfato actúa como un despolarizador catódico e incrementa el valor de la corrosión del metal. Las reacciones son similares a las propuestas por von Wolzogen Kühr, excepto que el oxígeno es mostrado como un despolarizador catódico. <sup>(22)</sup>

Otras teorías alternativas a la depolarización catódica son presentadas brevemente en la Tabla 2.5.

Nombre referido en la literatura y referencias.	Mecanismos principales.	Papel de la hidrogenasa.
Depolarización por sulfuro de hierro (King et al., 1973).	Formación de una celda galvánica hierro/sulfuro de hierro, el sulfuro de hierro actúa como el sitio para la reducción catódica del hidrógeno molecular.	Secundario mediante la regeneración de sulfuro ferroso.
Depolarización por sulfuro de hidrógeno (Costello, 1974).	Reducción catódica de sulfuro de hidrógeno producido microbialmente: $\text{H}_2\text{S} + \text{e}^- \rightarrow \text{HS}^- + \frac{1}{2}\text{H}_2$	Secundario mediante la producción de sulfuro de hidrógeno.
Azufre elemental (Schaschl, 1980).	Formación de una celda de concentración con azufre elemental actuando como el reactante.	Secundario mediante la producción de azufre elemental.
Mecanismo de Iverson (Iverson, 1983).	Producción de un volátil y corrosivo metabolito de fosfito de hierro.	No definido.
Acidificación local de ánodos (Crolet et al., 1993).	Acidificación localizada de ánodos debido a la formación de sulfuro de hierro como productos de corrosión. $(\text{Fe}^{2+} + \text{HS}^- \rightarrow \text{FeS} \downarrow + \text{H}^+)$	Ninguno.

Tabla 2.5. Mecanismos alternativos a la Teoría de la Depolarización Catódica. <sup>(22)</sup>

### 2.5.9.3. EFECTOS DEL BIOFILM MICROBIANO SOBRE LA CORROSIÓN.

La corrosión bacteriana (biocorrosión) ocurre dentro de una biopelícula (biofilm) que da lugar también a bioensuciamiento (biofouling). Las áreas internas de la biopelícula llegan a ser anaerobias aún en sistemas aerobios. Cuando se establece la anaerobiosis, da lugar a la colonización de las SRB, las cuales producen micro colonias que crecen en la superficie del metal. Algunas colonias no permanecen específicas, sino que se desarrollan formando un consorcio, donde los primeros colonizadores atraen a otros con sus productos metabólicos.

Como ya se mencionó la biocorrosión y el biofouling de las superficies metálicas se debe a procesos biológicos y electroquímicos que ocurren mediante la participación de microorganismos adheridos a las superficies a través de biofilms. Estas películas biológicas modifican drásticamente las condiciones de la interfase metal/solución formando una barrera al contacto entre el metal y el medio líquido circundante. Por ello, se considera que la corrosión microbiológica transcurre sobre una superficie modificada, con características fisicoquímicas y biológicas muy particulares que se podría denominar biológicamente condicionada.

Los biofilms pueden ser considerados como una matriz gelatinosa de material polimérico extracelular (MPE) de naturaleza polisacárida, con un elevado contenido de agua (aprox. 95 % de la masa), células microbianas y detritos inorgánicos variados. Las reacciones que se producen entre los metabolitos microbianos y la superficie metálica tienen lugar por debajo del biofilm o dentro de su estructura. Por ello, un factor clave para la modificación de las condiciones fisicoquímicas en la superficie metálica - y por ende la aceleración o retardo de la corrosión - es la formación del biofilm.

Es necesario conocer el efecto de los biofilms sobre la reacción de corrosión para implementar medidas de prevención y control adecuadas en sistemas industriales.

Secuencia de producción de la corrosión metálica y el biofouling.

Una superficie metálica en contacto con aguas industriales o naturales experimenta una serie de cambios biológicos e inorgánicos que conducen al fouling y la corrosión respectivamente. La secuencia de cambios biológicos es debida a la adherencia irreversible de diferentes tipos de microorganismos (bacterias, microalgas, hongos y protozoos) sobre el metal, a través de la producción de MPE. Esta fijación de tipo irreversible es la que resulta finalmente en la producción del biofilm (Figura 2.21). Este es la consecuencia de un proceso de acumulación en la interfase metal/solución que no es necesariamente uniforme ni en el tiempo ni en el espacio. <sup>(23)</sup>

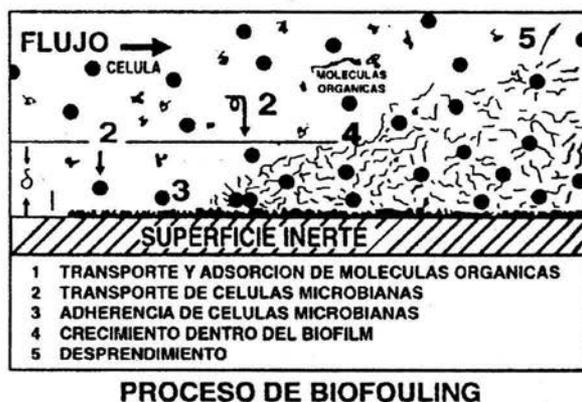


Figura 2.21. Esquema de la formación de biofilms en la interfase metálica

La precipitación de incrustaciones o "scaling" es un proceso que ocurre cuando las sales inorgánicas cristalinas insolubles se depositan en las paredes de las tuberías. La velocidad de este

proceso es función de una serie de variables como la temperatura, concentración de sales formadoras de depósitos, pH, calidad del agua de alimentación y condiciones de flujo. La secuencia de procesos inorgánicos se completa con el proceso de disolución metálica (corrosión) y de deposición de productos de corrosión (pasivación) que ocurren simultáneamente con los procesos de biofouling. Si bien son simultáneos en el tiempo, las direcciones en que se desarrollan ambos procesos son opuestas: la corrosión y la formación de depósitos de productos de corrosión, se dirige desde la superficie hacia la solución, mientras que el biofouling y el “scaling” provienen del seno de la solución y se depositan sobre el metal. A consecuencia de estos procesos simultáneos resulta una nueva interfase metal/solución que es controlada por variables de origen biológico (el biofouling) y electroquímico (la corrosión) (Figura 2.22). El comportamiento del metal en ese medio será la resultante de las interacciones entre ambos tipos de variables.

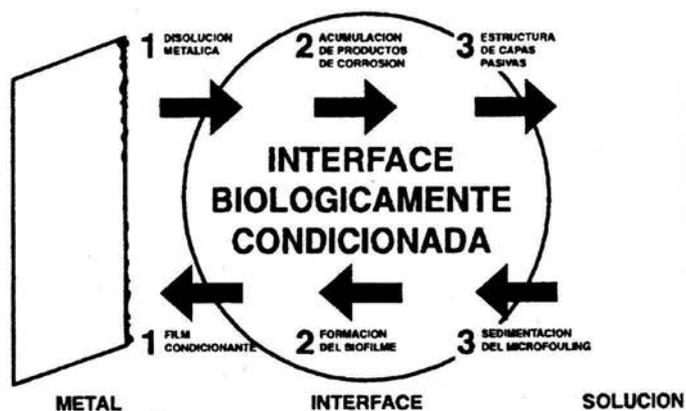


Figura 2.22. Secuencia de cambios biológicos y electroquímicos en la interfase metal/solución durante la formación de biofilms.

Mecanismos de interacción entre el “biofouling” y la corrosión.

Las distintas formas en que el proceso de “biofouling” puede inducir un proceso de corrosión fueron enumeradas de la siguiente manera por Characklis:

- 1) Influenciando el metabolismo microbiano a través de la estructura del biofilm (especialmente si es heterogéneo).
- 2) Influenciando la concentración de productos metabólicos dentro del biofilm.
- 3) Restringiendo el pasaje de especies químicas a través de la matriz de MPE del biofilm.
- 4) A través de una posible acción quelante del biofilm sobre ciertos iones.
- 5) Modificando la conductividad eléctrica del medio a través de la acción del MPE.
- 6) Dificultando el acceso de sustancias biocidas.
- 7) Alterando la concentración o acción de inhibidores de corrosión.

Previamente a la colonización de una superficie metálica por microorganismos se adsorbe un “film condicionante” de macromoléculas en la interfase. Este proceso de adsorción espontánea modifica la mojabilidad y distribución de cargas eléctricas en la superficie metálica. La adsorción posterior de células microbianas y su actividad metabólica impactan sobre los procesos electroquímicos (por ej. corrosión) que pueden ocurrir en la interfase metal/solución. Las células adheridas crecen y se reproducen formando colonias que constituyen zonas heterogéneas que favorecen la formación de zonas localizadas que actúan como ánodos o cátodos sobre la superficie del metal. Esta colonización no uniforme induce la formación de celdas de aireación diferencial

donde las zonas bajo las colonias microbianas presentan condiciones anaeróbicas, por el consumo respiratorio de los microorganismos, respecto a las áreas circundantes, donde la concentración de oxígeno es mayor. Tenemos así una zona anódica donde la disolución metálica se vería favorecida respecto a una zona donde la reacción catódica de reducción del oxígeno es la predominante (Figura 2.23).

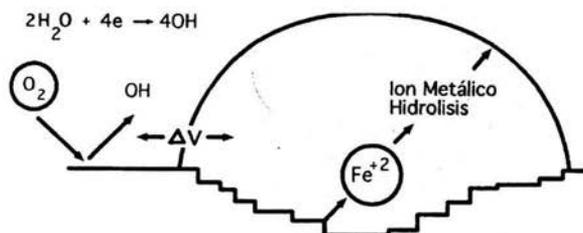


Figura 2.23. Esquema de reacciones anódicas y catódicas bajo una colonia microbiana.

Mediciones in situ efectuadas con microelectrodos revelan que en un medio líquido, un biofilm puede causar agotamiento del oxígeno presente en tan sólo 180 micrómetros de espesor. Como en ese nivel el medio es anaeróbico, las bacterias anaeróbicas causantes de corrosión, como las SRB, pueden proliferar aún cuando en el seno del agua en contacto con el biofilm la concentración de oxígeno disuelto sea elevada.

Este concepto de barrera difusional del biofilm (o de su matriz de MPE) ha sido modificado recientemente a través de observaciones y resultados obtenidos mediante la aplicación del microscopio con focal de rayos láser. Estos resultados permiten elaborar un nuevo modelo de biofilm constituido fundamentalmente por “clústers” o acúmulos microbianos y canales intercomunicantes en donde el flujo sería esencialmente controlado por convección más que por

difusión. Esta nueva concepción del biofilm modifica la interpretación de la acción de ciertos biocidas sobre los microorganismos adheridos sobre el metal.

Así como un biofilm constituido por células microbianas y su MPE modifican los perfiles de concentración de oxígeno en la interfase metal/solución, puede igualmente alterar las concentraciones locales de iones que facilitan la corrosión como los cloruros, o impedir la salida hacia la solución de productos metabólicos de naturaleza ácida generando áreas de bajo pH en la interfase. La magnitud de estos gradientes de pH estará condicionada por la capacidad buffer del medio líquido y otras variables.

Los microorganismos forman consorcios microbianos o comunidades mixtas en el espesor de los biofilms que producen efectos sinérgicos incapaces de ser originados por las especies en forma aislada. Por ejemplo la coexistencia de especies aeróbicas y anaeróbicas sobre superficies de acero al carbono, permite que bacterias capaces de reducir los compuestos férricos (insolubles) a ferrosos (solubles) produzcan la disolución de capas pasivantes del hierro constituidas predominantemente por óxidos e hidróxidos férricos. De esta manera se facilita el acceso a la superficie metálica de los sulfuros y otros productos corrosivos generados por las SRB anaeróbicas que conforman consorcios microbianos en el espesor del biofilm.

El impacto de los metabolitos excretados por los microorganismos sobre la reacción de corrosión se ve intensificado en las zonas de contacto entre los microorganismos y la superficie metálica.<sup>(23)</sup>

## 2.6. PREVENCIÓN Y CONTROL.

Un gran número de enfoques pueden ser usados para prevenir o minimizar la degradación microbiológica de materiales de construcción. La variedad de los enfoques apropiados depende de muchos factores, tales como la naturaleza del ambiente en el cual la MIC ocurrió (suelo, enfriamiento de agua, agua de mar), el tipo de microorganismo involucrado, y la naturaleza del material. En la prevención y control de la biocorrosión y biofouling en sistemas industriales, es primordial un adecuado seguimiento de las condiciones de operación del sistema en cuestión. Por consiguiente, una valoración de las variables de origen biológico e inorgánico que participan en el proceso es fundamental para luego poder implementar medidas preventivas o de control. Además es importante señalar que en la selección del método de tratamiento se deben considerar también las características del sistema: tipo de funcionamiento (abierto o cerrado), características del agua (enfriamiento o inyección, etc.), geometría del sistema, materiales estructurales, etc.

Los métodos empleados para prevenir la biocorrosión deben considerar dos aspectos fundamentales:

- Inhibir el crecimiento o actividad metabólica de los microorganismos.
- Modificar las características del ambiente donde se desarrolla el proceso de corrosión para evitar la adaptación de los microorganismos al medio.<sup>(23)</sup>

**A. BIOCIDAS:**

El tratamiento químico por excelencia usado para prevenir o controlar la corrosión microbiológica es el tratamiento con biocidas. Estos son compuestos (o combinación de compuestos) capaces de matar los microorganismos o eliminar el crecimiento microbiológico. Pueden ser inorgánicos como el cloro, ozono, bromo, etc., u orgánicos como la isotiazolina, compuestos de amonio cuaternario, aldehídos como glutaraldehído y acroleína, etc.

La desinfección de cualquier sistema utilizando biocidas debe cumplir con tres funciones principales: bactericida, fungicida y alguicida. Esto hace que aparezca el concepto de polivalencia de los biocidas. Determinado compuesto químico puede ser bactericida, pero no necesariamente será fungicida o alguicida. De igual manera, por lo que se refiere a un mismo grupo de bacterias o de hongos, el producto puede que actúe sobre una especie y no necesariamente sobre otra.

La efectividad del biocida depende de la naturaleza de los microorganismos a eliminar y la selección de las condiciones de operación del sistema a tratar. <sup>(23)</sup>

**PRINCIPALES REQUISITOS DE UN BIOCIDA PARA SISTEMAS INDUSTRIALES.**

- Selectividad para los microorganismos a eliminar.
- Su capacidad de mantener su efecto inhibitor frente a la acción de otras sustancias presentes en el medio bajo condiciones similares de operación.
- No ser corrosivo para los sistemas donde se aplique.
- Presentar una adecuada biodegradabilidad.
- Bajo costo.

Desde el punto de vista ambiental, un biocida no debe ser tóxico, y se deben considerar dos tipos de toxicidad:

1. Toxicidad humana (oral, por inhalación, por penetración dérmica, por irritación dérmica).
2. Eco toxicidad (ambiente acuático, aéreo, terrestre).<sup>(23)</sup>

## **B. INHIBIDORES:**

Los inhibidores de corrosión son sustancias que, añadidas a un medio corrosivo, reducen la velocidad de corrosión de los metales o aleaciones.<sup>(2)</sup>

### **CLASIFICACIÓN DE LOS INHIBIDORES:**

Los inhibidores de corrosión se pueden clasificar según diversos criterios como, por ejemplo:

- a) De acuerdo con su mecanismo de actuación: inhibidores anódicos, inhibidores catódicos, inhibidores de adsorción e inhibidores mixtos.
- b) De acuerdo con su composición química: inhibidores orgánicos e inhibidores inorgánicos.<sup>(2)</sup>

### **MECANISMOS DE INHIBICIÓN:**

- a) Adsorción de una película delgada sobre la superficie del metal.
- b) Formación de una capa pasivante, a veces de naturaleza desconocida y tan delgada que resulta inapreciable.
- c) Formación, por conversión, de una capa de productos de corrosión apreciable a simple vista.

- d) Modificación de las características corrosivas del medio por formación de precipitados protectores que lo separan del metal, o bien eliminando o desactivando el constituyente corrosivo del mismo. <sup>(2)</sup>

### C. RECUBRIMIENTOS:

Las pinturas o recubrimientos protectores actúan como barreras que impiden el acceso a los agentes de corrosión.

El uso de recubrimientos como método de protección contra la corrosión inducida microbiológicamente se ha orientado al uso de productos no-tóxicos basados en los siguientes productos: silicona, epoxy y fluorados. El recubrimiento es en general un buen método de protección siempre que no presente soluciones de continuidad pues las imperfecciones pueden proveer sitios preferenciales para ataque localizado.

Las pinturas antifouling también son utilizadas como método de control bacteriano, especificándose las mismas para el caso de que no puedan ser utilizados los biocidas (por ejemplo sistemas abiertos). Los recubrimientos deben cumplir los siguientes requisitos:

- a) No se deben alterar por el ataque bacteriano.
- b) No deben sufrir procesos de degradación que produzcan sustancias corrosivas.

Estos recubrimientos disminuyen el macrofouling y pueden eliminar algunos problemas de corrosión microbiológica reduciendo el número de bacterias formadoras de limo proveyendo superficies de baja tensión superficial donde la adherencia bacteriana es más difícil. <sup>(23)</sup>

**D. PROTECCIÓN CATÓDICA:**

La protección catódica se realiza imponiendo una corriente externa a la estructura metálica a proteger, que se opone así a la corriente de corrosión. Para ello el metal debe ser polarizado a un potencial pre-seleccionado y el costo del método depende principalmente de la magnitud de la corriente a aplicar. Como la protección catódica incrementa de manera local el pH de la interfase metal/solución debido a la producción de hidróxilos, disminuye en consecuencia la solubilidad de los compuestos de calcio y magnesio favoreciendo la precipitación de depósitos calcáreos. Estos depósitos disminuyen la cantidad de corriente necesaria para la protección y resultan beneficiosos desde un punto de vista económico.

Una adecuada combinación de protección catódica y cubiertas protectoras puede ser un eficiente sistema de control de la biocorrosión.<sup>(23)</sup>

**E. SELECCIÓN DE MATERIALES:**

Al seleccionar los materiales se debe tener en cuenta si éstos van a estar expuestos a ambientes donde se pueden desarrollar problemas de biocorrosión ya que se deben seleccionar en ese caso materiales aleados para una resistencia superior al picado, corrosión por rendijas y ataque localizado en general.

La selección de materiales debe incluir los siguientes pasos:

- Revisión de las condiciones de operación.
- Revisión del diseño.

- Selección del material más adecuado.
- Evaluación de los materiales.
- Especificación de la calidad.
- Seguimiento e inspección.

Otros métodos para combatir la biocorrosión puede ser mantener velocidades de flujo adecuadas (1 m/s), tratamiento térmico, radiación ultravioleta, corrientes eléctricas, ultrasonido, sistemas magnéticos, o filtración.<sup>(23)</sup>

---

**CAPÍTULO III**  
**DESARROLLO EXPERIMENTAL**

---

### 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

#### 3.1. Material y equipo.

##### - Material.

Viales Hungate.

Jeringas.

Matraces Erlenmeyer de 2L.

Matraz de cinco bocas de 1L.

Tubos de ensaye.

Material común estéril de laboratorio.

##### - Equipo.

Autoclave (para esterilización).

Incubadora (para controlar la temperatura).

Colorímetro (para medir la concentración de H<sub>2</sub>S).

Medidor de pH.

Agitador mecánico.

Potenciostato galvanostato Gill ACM con analizador de respuesta en frecuencia (para realizar las pruebas electroquímicas).

### 3.2. Caracterización química y mecánica del acero.

Se efectuó la caracterización mecánica del acero API X65, de acuerdo a las normas ASTM A 370-76 realizando ensayos de tensión, dureza Brinell y Rockwell B, para obtener las propiedades mecánicas y de manera conjunta se realizó un análisis químico utilizando la técnica de emisión por plasma para determinar su composición.

### 3.3. Cultivo y propagación de microorganismos.

Las muestras de los microorganismos con posible acción corrosiva ya habían sido aisladas de ductos dañados [C1, C4, M21 y M20 (no productora de H<sub>2</sub>S) y un BLANCO (medio de cultivo E)]. Se propagaron mediante la siembra o inoculación en dos diferentes medios de cultivo, manteniendo el pH en 7.35 (ajustando con NaHCO<sub>3</sub> 10% en Vol. y HCL 1N) a temperatura ambiente, que son parámetros apropiados para el desarrollo de los microorganismos.

Los medios de cultivo son:

Reactivo	Cantidad
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.5 gr.
*NH <sub>4</sub> Cl	1.0 gr.
CaCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	1.0 gr.
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	2.0 gr.
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.5 gr.
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.0 gr.
Lactato de sodio	3.5 ml.
Extracto de levadura	1.0 gr.
Ácido ascórbico	0.1 gr.
Agua destilada	1 L.

\* Concentración de Cl<sup>-</sup> 0.66 g/L

Tabla 3.1. Reactivos utilizados para la preparación del Medio E (Posgate, 1979).

También se inocularon microorganismos no productores de  $H_2S$ , por lo que el medio de cultivo no presentaría coloración negra; por lo tanto se utilizó el medio API RP 38 (API, 1965), el cual no es turbio como el medio E, por lo que cualquier alteración en la turbidez en el medio de cultivo sería indicativo del crecimiento de los microorganismos.

Reactivo	Cantidad
$K_2HPO_4$	0.01 gr.
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2 gr.
$FeSO_4(NH_4)_2SO_4 \cdot 6H_2O$	0.1 gr.
*NaCl	10.0 gr.
Acetato de sodio	4.0 gr.
Extracto de levadura	1.0 gr.
Ácido ascórbico	0.1 gr.
Agua destilada	1 L.

\* Concentración de Cl<sup>-</sup> 6.07 g/L

Tabla 3.2. Reactivos utilizados para la preparación del Medio API.

Se utilizan viales Hungate, se burbujea  $N_2$ , se sellan de inmediato, con el fin de obtener condiciones anaerobias. Posteriormente se realiza la esterilización de los viales en autoclave a  $121^\circ C$ , durante 15 minutos, y se dejan enfriar a temperatura ambiente, para su posterior inoculación.

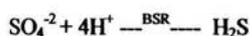
### 3.3.1. Cinética de crecimiento.

El crecimiento y reproducción de los microorganismos, a medida que éstos utilizan los recursos disponibles, se pueden representar gráficamente; de la cual se pueden obtener datos importantes sobre el comportamiento del cultivo como son: tiempo de duplicación de los microorganismos, determinación de las fases del cultivo, tiempo de duración de la fase logarítmica donde se presenta mayor actividad de crecimiento, tiempo que dura el cultivo vivo, etc.

La cinética de crecimiento se realizó por medio de una variación del método del número más probable, que consiste en inocular un matraz en condiciones anaeróbicas con los microorganismos y de éste tomar 1 mL cada 8 horas el primer día y a partir del segundo día cada 24 horas para hacer una serie de diluciones ( $10^{-1}$  a  $10^{-11}$ ) dentro de viales Hungate, también bajo condiciones de anaerobiosis y dejándolos incubar durante 4 semanas a una temperatura de  $35^{\circ}\text{C}$  para observar el desarrollo en los viales y de acuerdo a las diluciones que mostraron crecimiento y a una tabla de relación se supone el número más probable de organismos en cada muestra. El crecimiento se determina por la presencia de FeS (sulfuro de hierro), el cual da una coloración oscura al medio de cultivo. Con estos datos se graficó el número de bacterias respecto al tiempo de incubación.

### 3.3.2. Determinación de la producción de $\text{H}_2\text{S}$ .

Un parámetro importante, como ya se indicó es la producción de  $\text{H}_2\text{S}$ . Las bacterias sulfatorreductoras (BSR) son productoras de  $\text{H}_2\text{S}$  y utilizan los sulfatos como aceptor de electrones con la consecuente producción de  $\text{H}_2\text{S}$ , lo que provoca una acción agresiva de este ácido sobre el metal, provocando eventos de corrosión, la reacción se representaría de la siguiente forma:



Este parámetro se determinó a partir del método colorimétrico de Cord-Ruwisch<sup>(34)</sup> (1985), que consiste en colocar 0.1 mL del cultivo en una solución con reactivo de cobre (2 mL de HCL 0.5 M + 2 mL de  $\text{CuSO}_4$  0.05 M) y durante la reacción se produce un color café-

grisáceo que es proporcional a la cantidad de  $H_2S$  disuelto, el cual se puede medir en un espectrofotómetro. Para poder comparar la intensidad del color con la cantidad de mili moles de  $H_2S$ , se realizó una curva de calibración para lo cual primeramente se preparó una solución patrón de  $Na_2S$  (sulfuro de sodio) 100 mili moles y a partir de ésta se prepararon diferentes diluciones. Al mezclar este reactivo con el agua se libera  $H_2S$ , en cantidad proporcional a la concentración de  $Na_2S$ . Posteriormente se prepararon tubos con la solución del reactivo de cobre, a los que se les adicionó 0.1mL de las distintas diluciones de  $Na_2S$ , se agita e inmediatamente se mide su absorbancia a 480 nm (nanómetros). La reacción da la coloración arriba mencionada, cuya intensidad como ya se mencionó es proporcional a la cantidad de  $H_2S$  liberado y con esto se grafica la absorbancia respecto a los mili moles de  $H_2S$ .

### 3.3.3. Identificación de microorganismos.

La tinción de Gram simple se basa en que las células bacterianas difieren desde el punto de vista químico de su medio externo y por eso se tiñen, contrastando con él. Los microorganismos también difieren física y químicamente entre si y por eso reaccionan de una manera diferente frente a un determinado proceso de tinción. La tinción de Gram es la más empleada en bacteriología, es una tinción diferencial. Por éste método se clasifican las bacterias en dos grupos: Gram positivos (Gram +) y Gram negativos (Gram -), en función de su reacción frente a la coloración.

Como una forma de identificación de microorganismos por medio de microscopia óptica se realizó esta técnica y se tomaron fotografías (ver capítulo IV, figuras 4.21 y 4.22).

La tinción de Gram se realizó de la siguiente forma;

Primero se preparan soluciones de cristal violeta, yodo (lugol), safranina y una solución alcohol-acetona (1:1). En un portaobjetos estéril y seco se coloca una muestra tomada directamente del vial y se deja secar a temperatura ambiente; después de esto, se tiñe la muestra sumergiéndola en la solución de cristal violeta, yodo, alcohol-acetona y safranina sucesivamente (un minuto aproximadamente en cada solución), se retira el exceso del colorante con agua en cada paso, posteriormente la preparación se deja secar para observarla en el microscopio óptico.

#### **3.4. Montaje e inoculación de los biorreactores.**

Para el montaje del biorreactor primero se llevó a cabo la preparación de las partes del mismo por separado, comenzando por la preparación del electrodo y las muestras de acero montadas en lucita.

##### *Preparación del electrodo:*

Alambre de cobre de aproximadamente 20 cm se suelda con un alambre de platino de 1 cm y se colocan dentro de una varilla de vidrio de tal manera que sobresalga la punta del alambre de platino por un extremo y por el otro el alambre de cobre y se coloca en el electrodo un tapón de hule para poder introducirlo en el biorreactor como se muestra en la Figura 3.1.

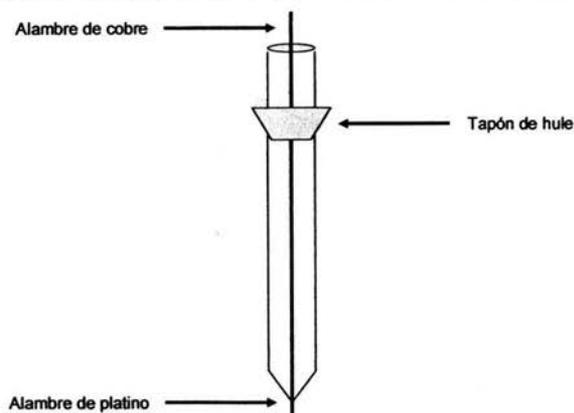


Figura 3.1. Electrodo de Pt/Pt

**Preparación de Probetas:**

Se realiza la metalografía según la norma ASTM E 3-80 a 3 muestras de  $0.5 \text{ cm}^2$  y una de  $1 \text{ cm}^2$  de acero API X65 montadas en lucita. Se introducen varillas metálicas que permitan el contacto eléctrico entre la muestra y la conexión exterior, verificando que exista continuidad entre las probetas y las varillas, éstas deben estar cubiertas con teflón o cubiertas con silicón para evitar su oxidación y asegurar su aislamiento durante las pruebas electroquímicas (Figura 3.2).

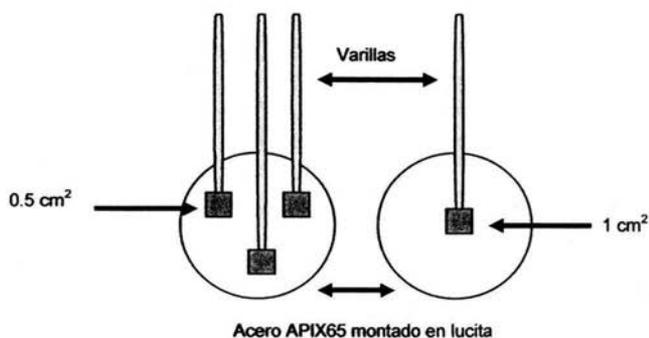


Figura 3.2. Probetas de acero API X65 montadas en lucita.

**Montaje del Biorreactor:**

Para poder realizar la caracterización electroquímica de las muestras en estudio, se realizó el montaje de un biorreactor conformado por un matraz de bola de 1L con cinco bocas en la parte superior y dos pequeñas salidas en la parte inferior.

Con los electrodos y las probetas preparadas se procede a armar el biorreactor como se indica:

- ❖ Se introducen al biorreactor los electrodos y las probetas procurando que entre ellos exista poca distancia para que se realicen adecuadamente las pruebas electroquímicas; el espacio es aproximadamente 3 mm entre el electrodo de referencia y la probeta según la norma ASTM G 59 – 78. Como se muestra Figura 3.3.

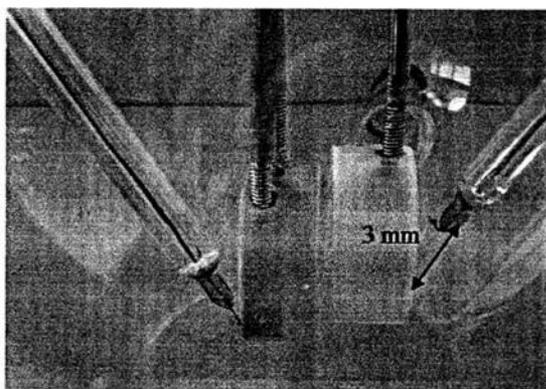
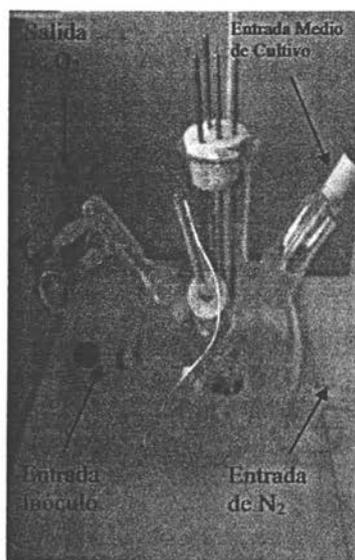
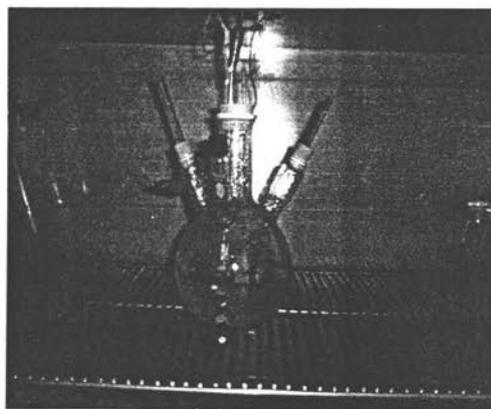


Figura 3.3. Separación entre los electrodos de referencia y las probetas de trabajo.

- ❖ Se agrega el medio de cultivo después de haber introducido las probetas.
- ❖ Por una de las entradas inferiores del biorreactor se comienza a burbujear Nitrógeno, por aproximadamente 3 minutos, para desplazar el oxígeno (asegurando de esta forma condiciones anaerobias) y dejándolo salir por una de las mangueras superiores conectadas.
- ❖ Se asegura que el biorreactor quede completamente hermético de tal forma que no entre oxígeno para finalmente introducir el inóculo por otra entrada inferior. Figura 3.4a.
- ❖ Con el biorreactor instrumentado se introduce el medio de cultivo y se esteriliza en autoclave a 121°C y 15 psi durante 15 minutos, inoculando posteriormente con las bacterias seleccionadas; se realiza la evaluación electroquímica dentro de la incubadora. Figura 3.4b.



a) Biorreactor sin entrada de oxígeno.



b) Biorreactor instrumentado y con inóculo.

Figura 3.4. Biorreactor.

### 3.5. Condiciones experimentales de las técnicas electroquímicas.

Las pruebas electroquímicas se realizaron de acuerdo con el siguiente arreglo experimental según la Figura 3.5.

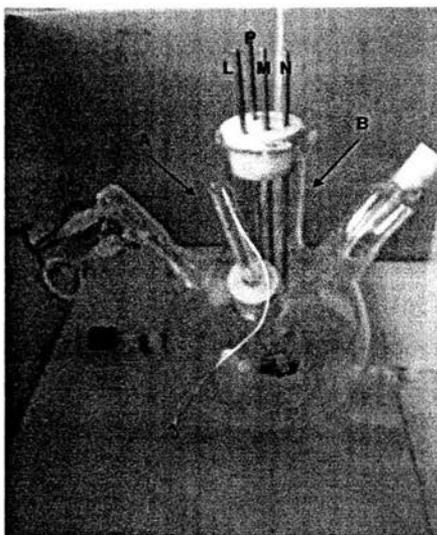


Figura 3.5. Esquema del biorreactor mostrando los electrodos utilizados.

Técnica	Polarización (mV)	$V_{\text{barrido}}$ (mV/min)	Amplitud (mV)	Frecuencia (Hz)	Puntos/prueba	ET	ER	EA
Tafel	$\pm 250$	10	---	---	---	P	B	A
Rp	$\pm 20$	100	---	---	---	L	A	B
EIS	---	---	10	10,000-0.01	100	N	A	B

\*Las pruebas electroquímicas se realizaron en estado estacionario.

Tabla 3.3. Parámetros de las técnicas electroquímicas aplicadas

---

**CAPÍTULO IV**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

#### 4.0. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

##### 4.1. Caracterización Mecánica.

La caracterización mecánica del acero API X65 de acuerdo a las normas ASTM A 370-76 consistió de realizar las siguientes pruebas:

##### 4.1.1. Ensayo de Dureza Brinell (norma ASTM E10)

MUESTRA	DIÁMETRO PROMEDIO HUELLA (mm)	NÚMERO DE DUREZA BRINELL
ACERO API X65	4.544	175

Tabla 4.1. Resultados de Dureza Brinell.

##### 4.1.2. Ensayo de Dureza Rockwell B (norma ASTM E18)

Dureza Patrón: 98.6 HRB

MUESTRA	PROMEDIO LECTURA ROCKWELL	NÚMERO DE DUREZA ROCKWELL
ACERO API X65	89.6	89.6 HRB

Tabla 4.2. Resultados de Dureza Rockwell.

##### 4.1.3. Ensayo de Tensión (norma ASTM E8).

MUESTRA	CARGA MÁXIMA (Kgf)	$\sigma_{MAX}$ (MPa)	$\epsilon_{MAX}$ (%)	$\sigma_c$ (MPa)	$\sigma_{RUPTURA}$ (MPa)	AI (%)	RA (%)
ACERO API X65	1677.05	581.67	9.26	488.67	283.34	488.67	77.67

Tabla 4.3. Resultados de Ensayo de Tensión.

#### 4.2. Caracterización Química.

Se realizó un análisis químico con la técnica de Espectrometría de Emisión por Plasma para determinar su composición.

MUESTRA	C %	Mn %	Si %	P %	S %	Nb %	Al %
ACERO API X65	0.089 ± 0.001	1.028 ± 1.014	0.240 ± 0.003	<0.01	0.006	0.0040 ± 0.001	0.0223 ± 0.001

Tabla 4.4. Resultados del análisis químico.

#### 4.3. Selección de Cepas.

En este trabajo se utilizaron diferentes Cepas bacterianas aisladas de ductos dañados etiquetadas como C1, C4, M20 (no productora de H<sub>2</sub>S), M21 y un Blanco (medio de cultivo ME).

#### 4.4. Construcción de Curvas de Crecimiento.

Se inocularon microorganismos de las Cepas seleccionadas (C1, C4 y M21) utilizando el medio de cultivo ME y para la Cepa M20 el medio API mencionado en las Tablas 3.1 y 3.2 respectivamente. De lo anterior se presentan los resultados (ver Tablas y Figuras pp. 84-87) junto con los obtenidos en la medición del H<sub>2</sub>S.

#### 4.5. Producción de H<sub>2</sub>S.

De acuerdo al método colorimétrico de Cord-Ruwisch<sup>(34)</sup> se determinó la cantidad de H<sub>2</sub>S que producían los microorganismos (excepto Cepa M20), realizando primero una curva de calibración (ver Tabla 4.5 y Figura 4.1) de la cual se obtuvieron los siguientes resultados:

## CURVA DE CALIBRACIÓN

Conc. (mM)	H <sub>2</sub> S Abs. (nm)
2	0.0223
4	0.05
6	0.0876
8	0.1326
10	0.1813
12	0.2213
14	0.294
16	0.3706
18	0.409
20	0.4946

Tabla 4.5. Absorbancia a 480 nm de longitud de onda que corresponde a cada concentración en milimoles para la realización de la curva de calibración.

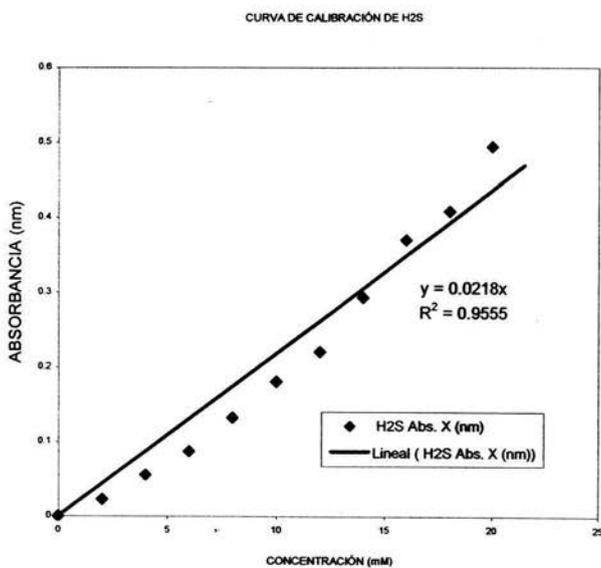


Figura 4.1. Curva de calibración de H<sub>2</sub>S, presentando su línea de tendencia.

#### **4.6. Discusión de la Cinética de Crecimiento y Producción de H<sub>2</sub>S.**

##### **4.6.1. Cinética de crecimiento Cepa C1:**

En esta curva se pueden observar claramente las cuatro fases de una curva típica de crecimiento bacteriano (Figura 4.2). La fase Lag (duración 32 horas), la fase Log (duración 136 horas) alcanzando un tiempo máximo de reproducción a las 168 horas, pasando a la fase de estabilidad (duración 46 horas) y finalmente la fase de muerte. Por lo que el tiempo total aproximado de vida de esta cepa es de 264 horas.

##### **Producción de H<sub>2</sub>S Cepa C1:**

Se puede ver que desde las 8 horas comienza la producción de H<sub>2</sub>S alcanzando un máximo a las 240 horas desde donde comienza a disminuir. En este tiempo las bacterias se encuentran en su fase de estabilidad.

##### **4.6.2. Cinética de crecimiento Cepa C4:**

En esta cepa (Figura 4.3) la fase lag tiene un tiempo muy corto de duración (8 horas) desde donde comienza la fase log teniendo un máximo de reproducción a las 168 horas donde posteriormente comienza la fase de muerte, la fase de estabilidad no se observa. El tiempo total de vida aproximado de esta cepa es de 336 horas.

##### **Producción de H<sub>2</sub>S Cepa C4:**

El incremento de H<sub>2</sub>S comienza a las 24 horas teniendo una estabilidad a las 120 horas, en este tiempo las bacterias se encuentran en su fase de muerte.

**4.6.3. Cinética de crecimiento Cepa M21:**

En esta cepa (Figura 4.4) también se definen las cuatro fases principales, una fase lag de 24 horas desde donde comienza la fase log (duración 240 horas) y comienza la fase estacionaria y finalmente la fase de muerte. Su tiempo máximo de reproducción se encuentra a las 240 horas Su tiempo de vida según la gráfica respectiva se estima de aproximadamente 312 horas.

**Producción de H<sub>2</sub>S Cepa M21:**

La producción de H<sub>2</sub>S comienza desde las 8 horas con un máximo en 240 horas, se observa claramente el comportamiento similar a su respectiva gráfica de cinética de crecimiento.

**4.6.4. Cinética de crecimiento Cepa M20:**

No hay fase lag ni fase log porque la gráfica (Figura 4.5) presenta escalones de semi-estabilidad, pero es posible apreciar un comportamiento análogo a las cepas anteriores. La fase de muerte comienza a las 240 horas (que es su tiempo total de vida) y el tiempo de máxima reproducción es de 216 horas. Lo anterior podría indicar la diferencia que existe entre las cepas productoras respecto a ésta que no produce H<sub>2</sub>S, esto se ratificara con las técnicas electroquímicas que de igual forma presentan un comportamiento completamente diferente al de esta cepa.

## CEPA C1

No. de Horas	Células/mL	Absorción H <sub>2</sub> S (nm)
0	5,000	0
8	5,000	0.001
24	5,000	0.007
32	5,000	0.009
48	50,000	0.012
56	50,000	—
72	50,000,000	0.014
96	5,000,000,000	0.137
168	50,000,000,000	0.297
192	5,000,000,000	0.304
216	5,000,000,000	0.553
240	5,000,000,000	0.789
264	5,000,000,000	0.287
336	50,000,000	0.240

Tabla 4.6. Número de horas en que se realizaron las diluciones, las células/mL y la correspondiente absorbancia de H<sub>2</sub>S a una longitud de onda de 480 nm para la Cepa C1.

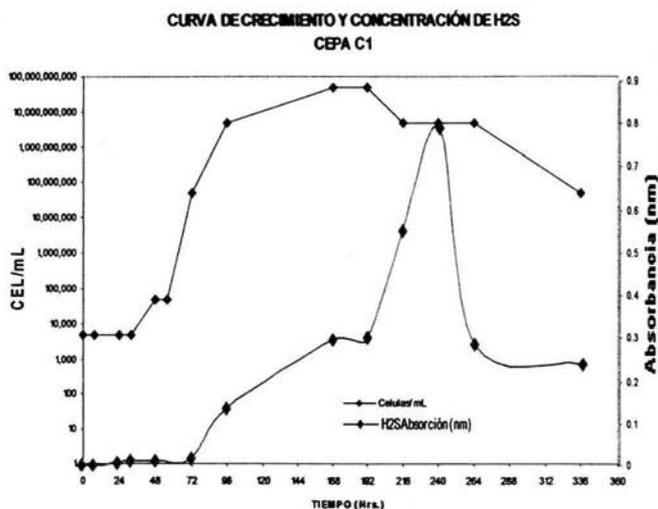


Figura 4.2. Curva de crecimiento células/mL y absorbancia de H<sub>2</sub>S (nm) respecto al número de horas en que se realizaron las diluciones para la Cepa C1.

CEPA C4

No. de Horas	Células/mL	Absorción H <sub>2</sub> S (nm)
0	500,000	0
8	500,000	0
24	5,000,000	0.011
32	5,000,000	0.003
48	50,000,000	0.006
56	50,000,000	—
72	50,000,000	0.070
96	5,000,000,000	0.204
168	50,000,000,000	0.219
192	500,000,000	0.225
216	500,000,000	0.294
240	50,000,000	0.258
264	50,000,000	—
336	5,000,000	0.243

Tabla 4.7. Número de horas en que se realizaron las diluciones, las células/mL y la correspondiente absorbanza de H<sub>2</sub>S a una longitud de onda de 480 nm para la Cepa C4.

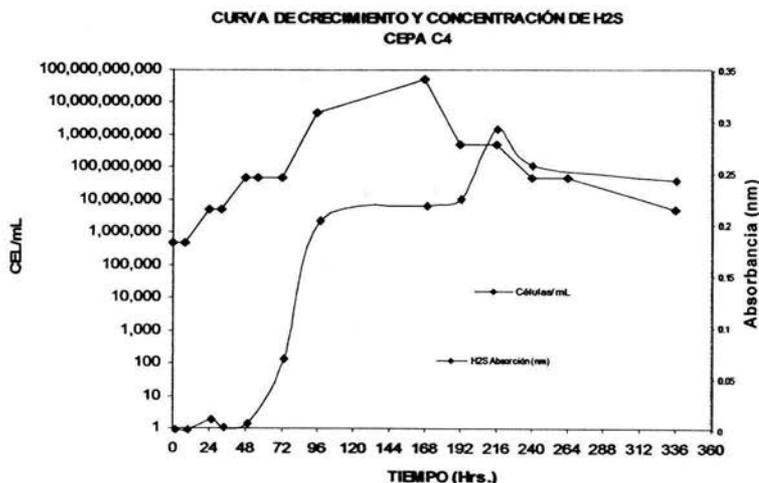


Figura 4.3. Curva de crecimiento células/mL y absorbanza de H<sub>2</sub>S (nm) respecto al número de horas en que se realizaron las diluciones para la Cepa C4.

## CEPA M21

No. de Horas	Células/mL	Absorción H <sub>2</sub> S (nm)
0	5,000	0
8	5,000	0.017
24	5,000	0.031
32	5,000	----
48	50,000	0.021
56	50,000	----
72	50,000,000	0.059
96	5,000,000,000	0.214
168	50,000,000,000	0.304
192	5,000,000,000	0.334
216	5,000,000,000	0.359
240	5,000,000,000	0.381
264	5,000,000,000	0.378
336	50,000,000	0.338

Tabla 4.8. Número de horas en que se realizaron las diluciones, las células/mL y la correspondiente absorbancia de H<sub>2</sub>S a una longitud de onda de 480 nm para la Cepa M21.

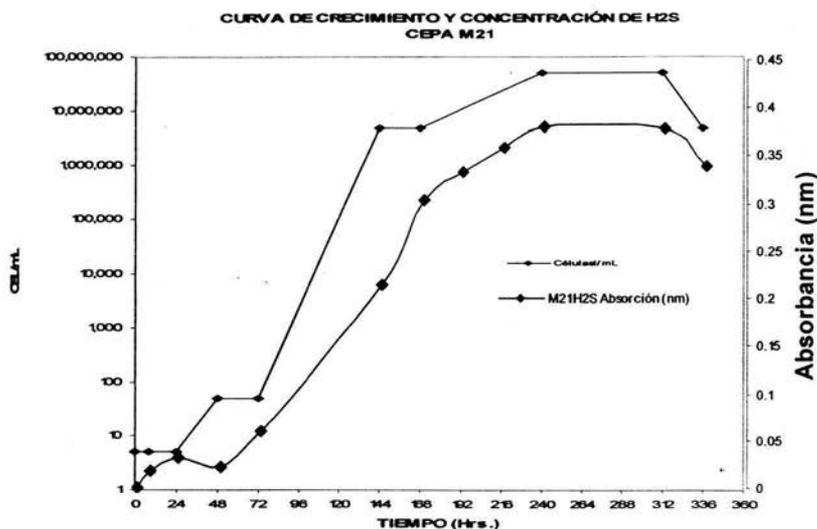


Figura 4.4. Curva de crecimiento células/mL y absorbancia de H<sub>2</sub>S (nm) respecto al número de horas en que se realizaron las diluciones para la Cepa M21.

## CEPA M20

No. de Horas	Células/mL
0	50,000
24	500,000
48	500,000
72	50,000,000
144	50,000,000
192	50,000,000
216	5,000,000,000
240	5,000,000,000
264	50,000,000
336	5,000,000

Tabla 4.9. Número de horas en que se realizaron las diluciones, las células/mL y la correspondiente absorbancia de H<sub>2</sub>S a una longitud de onda de 480 nm para la Cepa M20.

## CURVA DE CRECIMIENTO CEPA M20

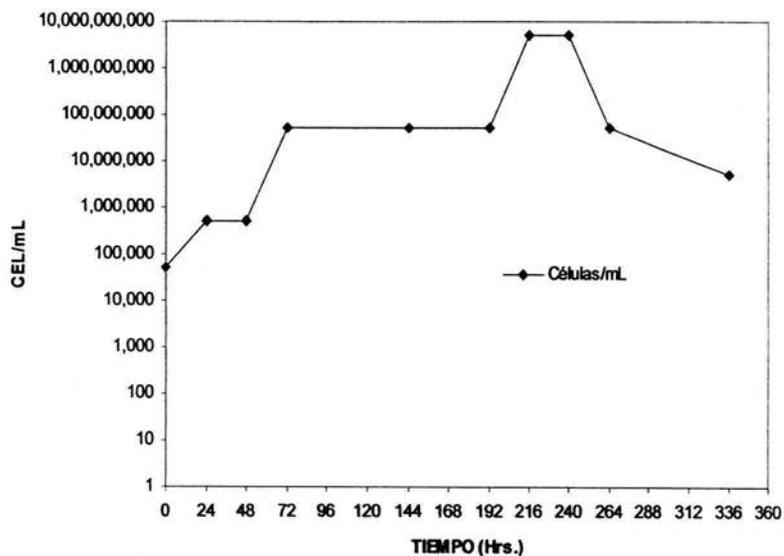


Figura 4.5. Curva de crecimiento de la Cepa M20, número de horas en que se realizaron las diluciones respecto al número más probable de células/mL en cada muestra.

#### 4.7. Pruebas Electroquímicas.

A continuación se presentan los resultados obtenidos experimentalmente mediante las técnicas electroquímicas de Extrapolación de Tafel, Resistencia a la Polarización y Espectroscopia de Impedancia Electroquímica.

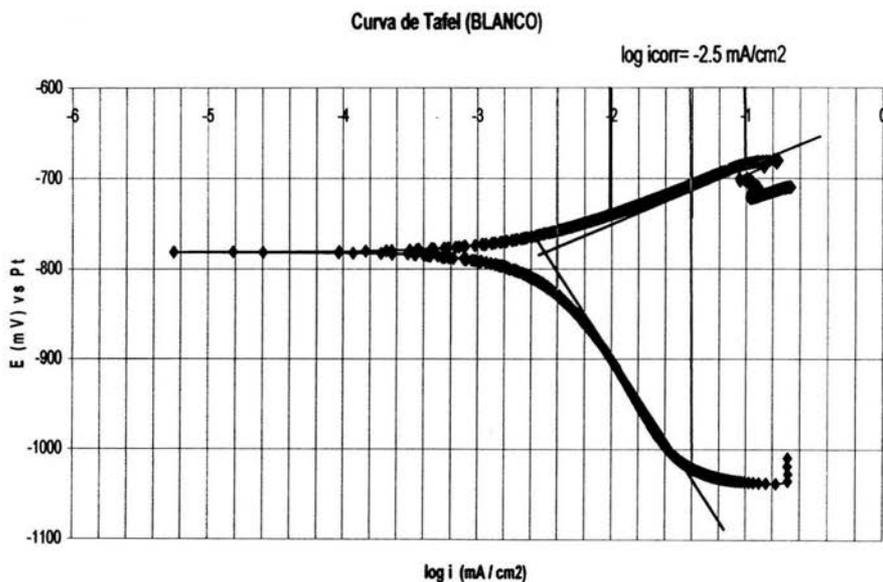


Figura 4.6. Curva de Tafel para el Blanco, E vs. Pt (mV) respecto al Log i (mA/cm<sup>2</sup>)

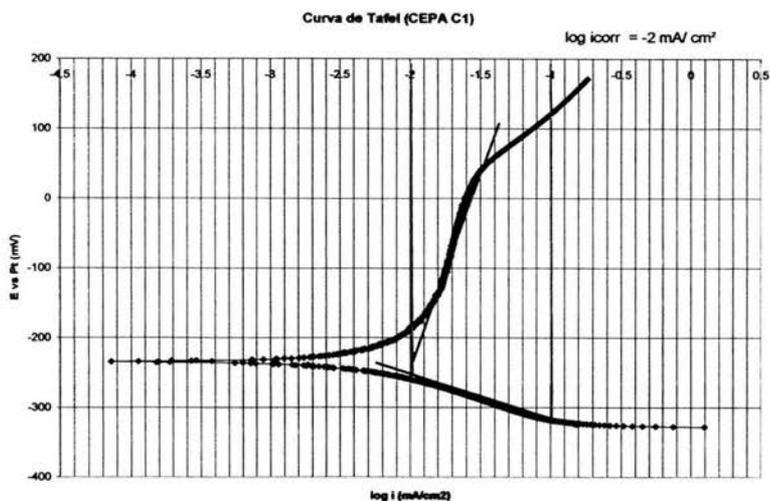


Figura 4.7. Curva de Tafel para la Cepa C1, E vs. Pt (mV) respecto al Log i (mA/cm<sup>2</sup>).

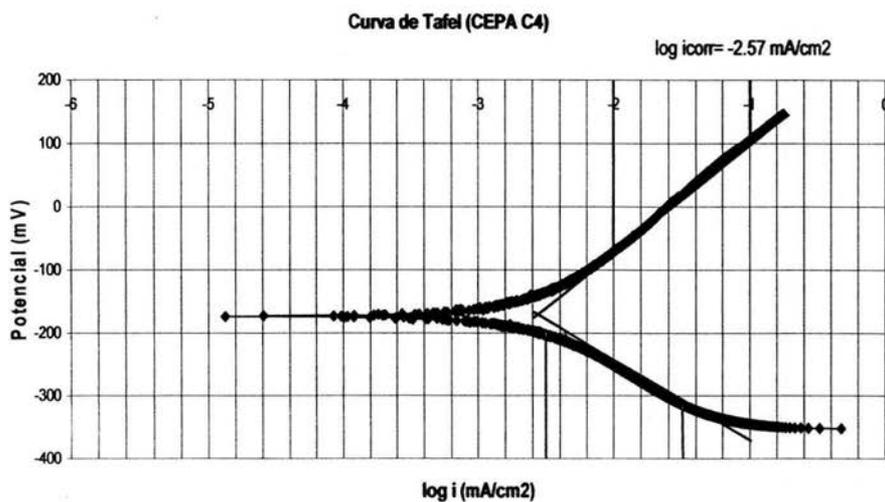


Figura 4.8. Curva de Tafel para la Cepa C4, E vs. Pt (mV) respecto al Log i (mA/cm<sup>2</sup>).

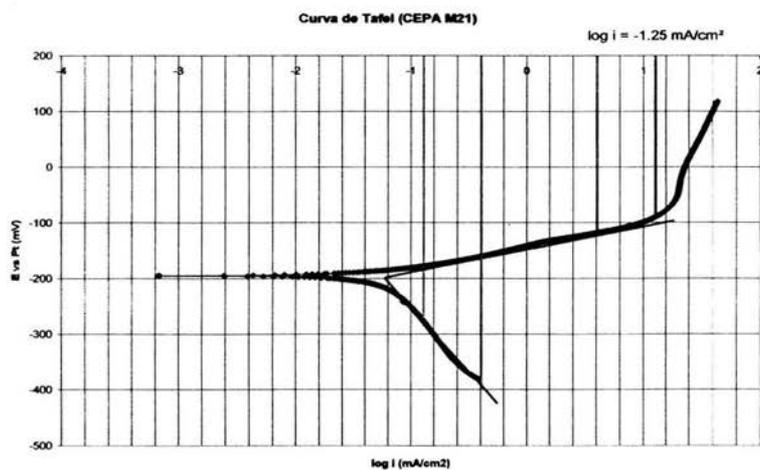


Figura 4.9. Curva de Tafel para la Ceba M21, E vs. Pt (mV) respecto al Log  $i$  ( $\text{mA/cm}^2$ ).

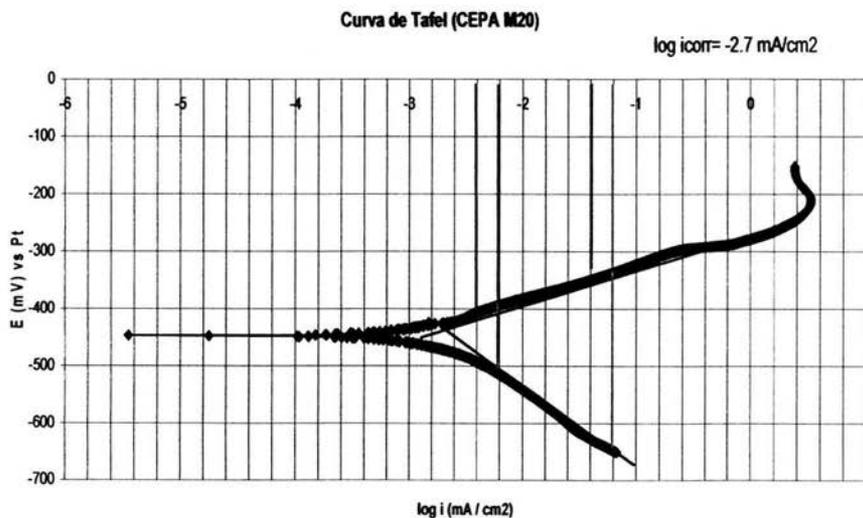


Figura 4.10. Curva de Tafel para la Ceba M20, E vs. Pt (mV) respecto al Log  $i$  ( $\text{mA/cm}^2$ ).

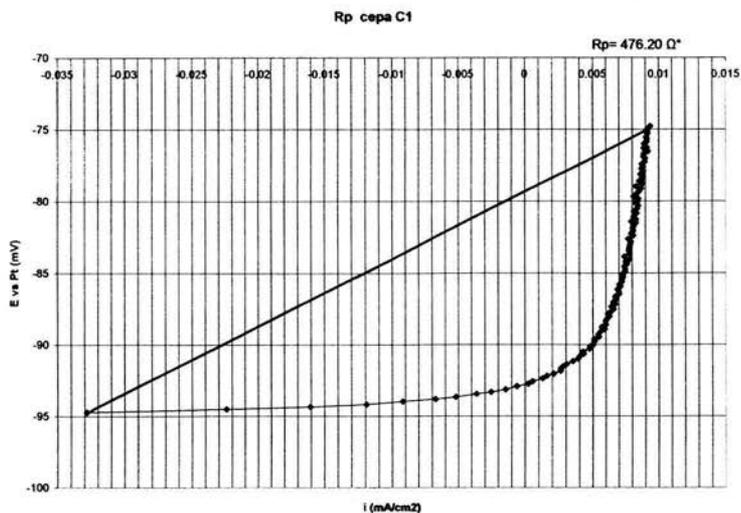


Figura 4.13. Resistencia a la polarización para la Ceba C1, E vs. Pt (mV) respecto a  $i$  (mA/cm<sup>2</sup>).

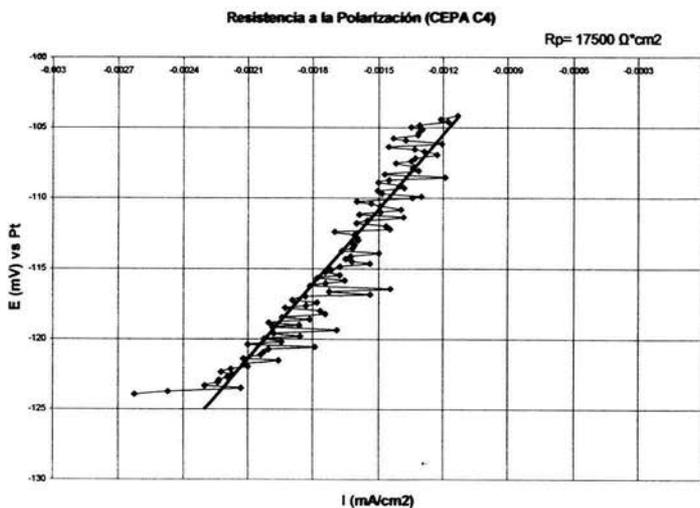


Figura 4.14. Resistencia a la polarización para la Ceba C4, E vs. Pt (mV) respecto a  $i$  (mA/cm<sup>2</sup>).

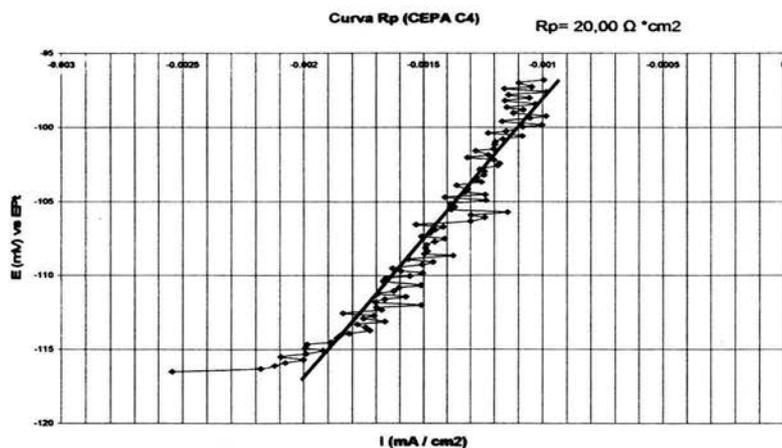


Figura 4.15. Curva de Resistencia a la polarización para la Cepa C4, E vs. Pt (mV) respecto a  $i$  (mA/cm<sup>2</sup>).

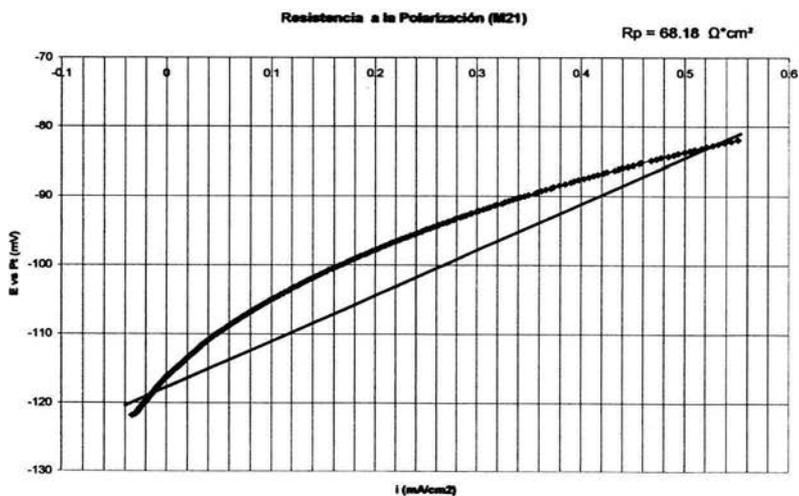


Figura 4.16. Resistencia a la polarización para la Cepa M21, E vs. Pt (mV) respecto a  $i$  (mA/cm<sup>2</sup>).

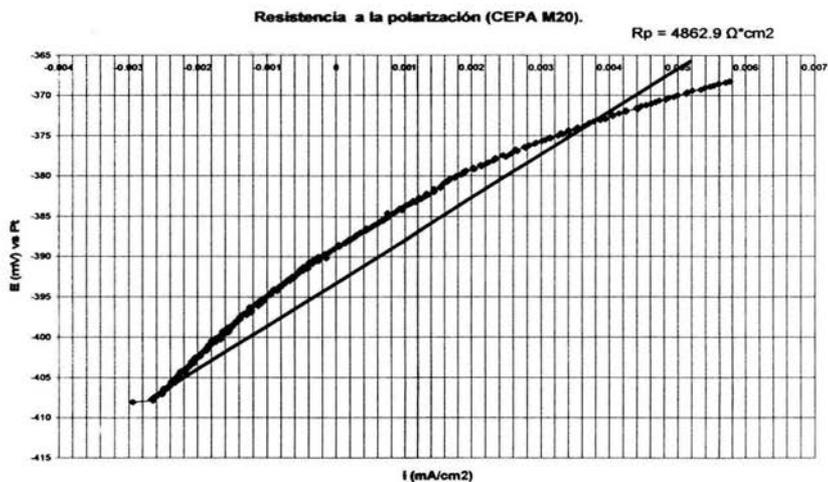


Figura 4.17. Resistencia a la polarización para la Ceba M20, E vs. Pt (mV) respecto a  $i \text{ (mA/cm}^2\text{)}$ .

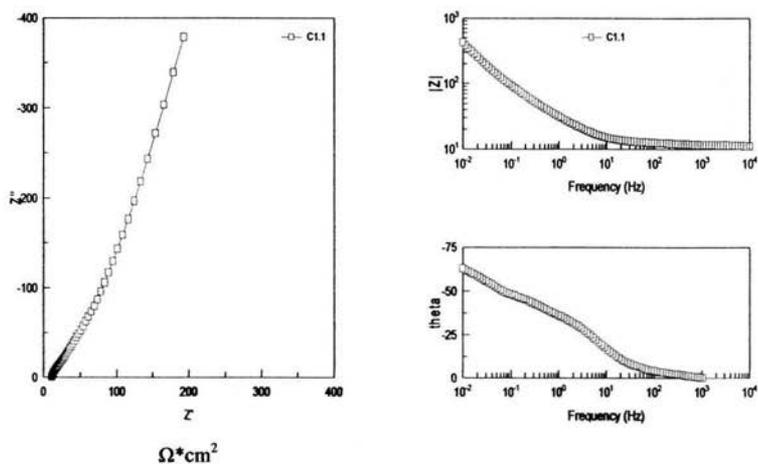


Figura 4.18. Diagrama de impedancia para la Ceba C1.

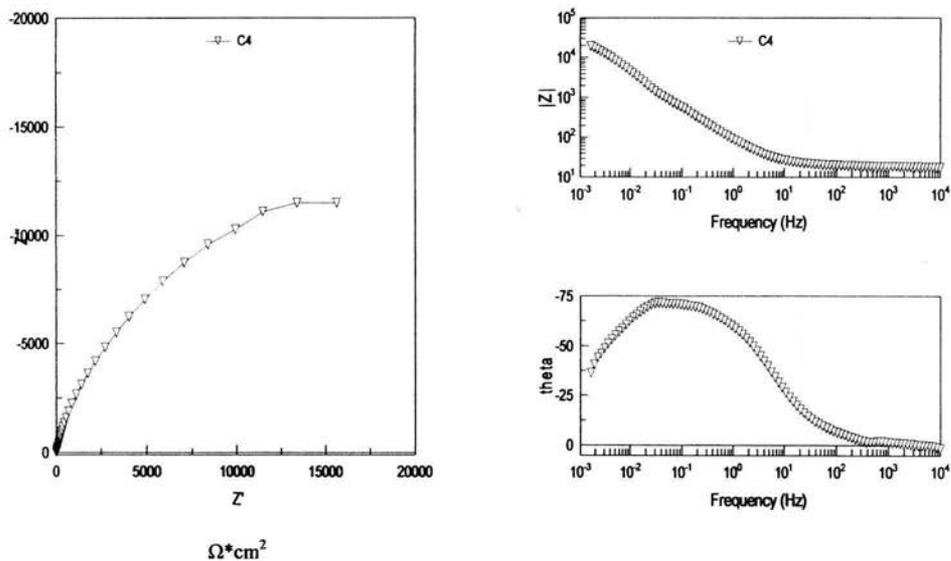


Figura 4.19. Diagrama de impedancia para la Cepa C4.

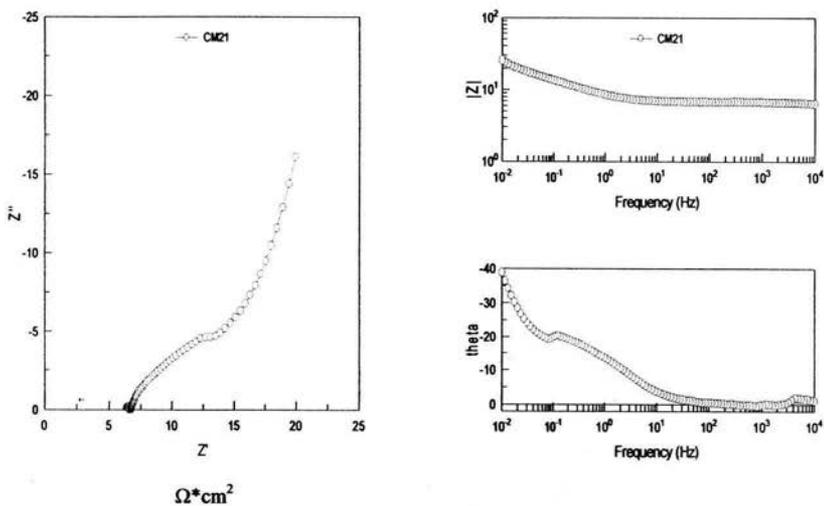


Figura 4.20. Diagrama de impedancia para la Cepa M21.

MEDIO	ba (mV/dec)	bc (mV/dec)	log i (mA/cm <sup>2</sup> )	icorr (mA/cm <sup>2</sup> )	Vcorr (mpy)
BLANCO	56	193	-2.5	0.00316	1.5
CEPA C1	∞	59	-2.0	0.01	4.6
CEPA C4	173	152	-2.57	0.0027	1.3
CEPA M21	50	240	-1.25	0.056	27.5
CEPA M20	57	136	-2.7	0.002	0.92

Tabla 4.10. Cuadro de resultados obtenidos a partir de la Extrapolación de Tafel para todas las cepas.

MEDIO	Rp (Ω*cm <sup>2</sup> )	ba (mV/dec)	bc (mV/dec)	B (mV/dec)	icorr (mA/cm <sup>2</sup> )	Vcorr (mpy)
BLANCO	2329.8	56	193	18.9	0.0081	3.72
BLANCO	2386.7	56	193	18.9	0.0079	3.63
*CEPA C1	476.2	∞	59	26	0.0546	25.02
CEPA C4	17500	173	152	35	0.0020	0.92
CEPA C4	20000	173	152	35	0.0018	0.80
CEPA M21	68.18	50	240	18	0.2640	121
CEPA M20	4862.9	57	136	17.5	0.0036	1.65

\* Para la Cepa C1 la pendiente anódica no se pudo establecer de la gráfica por lo tanto la B se obtuvo dándole un valor ~26 mV/dec.

Tabla 4.11. Cuadro de resultados obtenidos a partir de la Resistencia a la Polarización para todas las cepas.

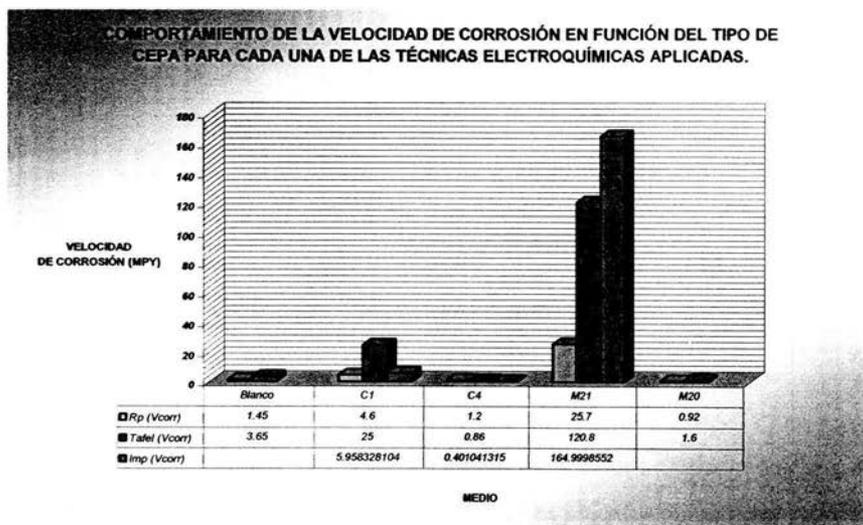


Figura 4.21. Comparación de las velocidades de corrosión obtenidas de las tres técnicas electroquímicas utilizadas para todos los medios.

#### **4.7.1. Discusión de Resultados de Pruebas Electroquímicas.**

En esta parte se analizan las curvas obtenidas mediante la técnica de Extrapolación de Tafel, Resistencia a la Polarización y Espectroscopia de Impedancia Electroquímica, en las cuales se incluyen los resultados obtenidos para el Blanco (Medio E, sin microorganismos), las cepas C1, C4, M21 y M20. Cabe señalar que se prepararon dos medios de cultivo Medio E y Medio API, en el primero se efectuaron las pruebas electroquímicas y en el segundo únicamente se realizó la cinética de crecimiento para la cepa M20, debido a que ésta no es productora de H<sub>2</sub>S y no presenta coloración negra; dicho medio de cultivo no es turbio como el Medio E, por lo que cualquier alteración en la turbidez del medio de cultivo sería indicativo del crecimiento de los microorganismos. La composición de ambos medios de cultivo se mencionó en el desarrollo experimental.

#### **4.7.2. Extrapolación de Tafel.**

##### **4.7.2.1. Blanco.**

En esta curva se puede observar que la zona catódica no presenta ni un comportamiento difusional ni activacional, más bien podría tratarse de un comportamiento mixto, debido a que la pendiente es mayor de 120 mV. Sin embargo, es importante notar que el potencial de corrosión es muy negativo (-780 mV vs. Pt), lo que hace suponer que el medio de cultivo (sin microorganismos) está provocando dicho desplazamiento de potencial de corrosión del Acero API X65, que a este pH (7.35) no debería ser tan negativo, por lo que se considera muy agresivo el medio de cultivo. Esto se podría deber a que en la composición de este medio se encuentran presentes cloruros en una concentración de (Medio E) 0.0124 M y (Medio API) 0.104 M (Tabla 3.1 y 3.2), que podrían provocar una despolarización anódica, lo cual se analiza al final de este capítulo.

En cuanto a la zona anódica, no se observan demasiados cambios, sólo a un potencial de aproximadamente  $-700$  mV en donde la tendencia no es del todo clara, lo cual no permite extraer más información y por tanto sólo se denota un comportamiento activacional.

#### 4.7.2.2. Cepa C1.

En esta curva se observa que la zona catódica no presenta grandes cambios, el comportamiento es similar al Blanco. Analizando la zona anódica se observa que el potencial de corrosión se ha desplazado de casi  $-800$  mV (Blanco) hasta  $-225$  mV (esto se puede explicar en un diagrama de Evans-Tafel más ampliamente al final de este capítulo). Lo importante es el análisis de la zona anódica, en la cual se presenta una zona de pseudo-pasivación que comprende un rango de potencial de  $-150$  a  $+30$  mV proporcionando una zona de aproximadamente  $180$  mV. A diferencia de la cepa M20 donde hay una posible pasivación, para esta cepa es más clara esta zona, ya que aunque existe un pequeño incremento de corriente, este es constante en ese rango para posteriormente iniciar una zona de transpasivación después de alrededor de  $+30$  mV. La velocidad de corrosión es mayor que la obtenida en las cepas C4 y M20, pero ligeramente menor que la de la cepa M21, lo anterior concuerda con los resultados de  $R_p$  que se mostrarán en el inciso 4.7.2.

#### 4.7.2.3. Cepa C4.

Para la cepa C4 se observa que el potencial de corrosión es más positivo que en los casos anteriores, en donde, de un potencial inicial de  $-780$  mV (Blanco) se ha desplazado al menos  $600$  mV en sentido anódico (esto se puede explicar en un diagrama de Evans-Tafel al final de este capítulo). No obstante, se aprecia que tanto en la zona anódica como en la catódica, la velocidad de corrosión ( $9.3$  mpy) no presenta mayor cambio con respecto al Blanco ( $1.5$  mpy).

Esto no concuerda con el metabolismo de los microorganismos, ya que al producir  $H_2S$  se esperaría que la velocidad de corrosión aumentara y que el potencial de corrosión fuera más activo. Lo anterior se podría explicar analizando la curva de crecimiento de dicha cepa, en donde se observa que si las pruebas se corrieron en la fase de muerte, la producción de  $H_2S$  ha disminuido; e incluso las mismas bacterias podrían tener un efecto de barrera protectora inhibiendo así la velocidad de corrosión.

#### 4.7.2.4. Cepa M21.

En esta curva se observa que la zona catódica no presenta grandes cambios, el comportamiento es similar al Blanco. Lo que es importante analizar es la zona anódica, de donde se obtiene la siguiente información:

Para esta cepa, el potencial de corrosión se ha desplazado de casi -800 mV (Blanco) hasta -200 mV, esto podría significar que esta cepa es menos agresiva que el medio de cultivo (dado que su comportamiento es similar a las cepas anteriores también es posible explicar mediante un diagrama de Evans-Tafel al final de este capítulo). Sin embargo, al analizar la velocidad de corrosión a partir de la  $i_{corr}$  se ve que no necesariamente está sucediendo lo anterior, debido a que la velocidad de corrosión (27.5 mpy) en esta cepa es mucho mayor que la velocidad de corrosión obtenida en el Blanco (1.5 mpy). Esto tiene sentido y lógica ya que esta cepa sí es productora de  $H_2S$ , lo que puede acelerar el proceso de corrosión o favorecer la cinética de corrosión. También en la curva anódica se aprecia claramente que a un potencial de -70 mV, una pequeñísima pseudo pasivación (aproximadamente de 50 mV), la cual puede estar relacionada con la formación del biofilm, en cuyo caso indicaría que éste es muy inestable. Este comportamiento se podría atribuir a

la agresividad del medio, ya que como se mencionó, esta cepa produce  $H_2S$  y podría romper fácilmente dicho biofilm. Esto se corrobora al observar la curva de producción de  $H_2S$ , en donde se realizaron dichas pruebas electroquímicas a un valor máximo de producción de  $H_2S$ , por lo que se piensa que el medio era muy agresivo.

#### 4.7.2.5. Cepa M20 (no produce $H_2S$ ).

En este caso se puede observar inicialmente que el potencial de corrosión con respecto al Blanco se modifica al menos 350 mV, es decir, que de un potencial de casi -800 mV (Blanco), se ha desplazado hasta -450 mV, esto significaría que esta cepa es menos agresiva que el medio de cultivo lo cual resultaría benéfico debido a que existe una tendencia a la pasivación (dado que su comportamiento es similar a las cepas anteriores también es posible explicar mediante un diagrama de Evans-Tafel al final de este capítulo).

En esta curva se observa que la zona catódica no presenta grandes cambios, el comportamiento es similar al Blanco. Lo que es importante analizar es la zona anódica, en donde a potenciales más positivos que -350 mV se aprecia una posible pasivación, lo cual tiene sentido porque esta cepa no es productora de  $H_2S$  podría estar protegiendo al acero, probablemente por la formación de un biofilm. Incluso lo que apoya esta información es el análisis de la velocidad de corrosión a partir de la  $i_{cor}$  que para esta cepa disminuye de  $10^{-2.5}$  mA/cm<sup>2</sup> (Blanco) a  $10^{-2.7}$  mA/cm<sup>2</sup>, y aunque el cambio no es muy grande por lo menos disminuye la velocidad de corrosión.

### 4.7.3. Resistencia a la Polarización.

#### 4.7.3.1. Blanco.

En el caso de Rp, se presentan las gráficas por duplicado, sólo para comprobar la reproducibilidad de la prueba; en donde se observa que en ambas gráficas el potencial de corrosión es aproximadamente de -780 a -785 mV, lo cual concuerda con la curva de Tafel ( $E_{\text{corr}} -780$  mV) y lo más importante es que la Rp es de aproximadamente 2330 y 2387  $\Omega\text{-cm}^2$ , no habiendo mucha diferencia entre éstas.

#### 4.7.3.2. Cepa C1.

Para este caso el potencial de corrosión se ha desplazado anódicamente de casi -800 mV (Blanco) hasta aproximadamente -85 mV, solamente observando este cambio de potencial se podría pensar en una posible pasivación, lo cual no está ocurriendo, ya que al analizar la velocidad de corrosión a partir de la Rp se puede ver que de aproximadamente 2350  $\Omega\text{-cm}^2$  (Blanco), disminuye hasta 476  $\Omega\text{-cm}^2$ , que a su vez indica que la velocidad de corrosión para esta Cepa es mayor que la obtenida en el Blanco. Esto se puede explicar analizando la agresividad del medio de cultivo porque esta Cepa es productora de  $\text{H}_2\text{S}$  y por tal motivo el medio es más agresivo, y a diferencia de la Cepa C4 se podría pensar que la curva de polarización se realizó cuando había una máxima producción de  $\text{H}_2\text{S}$ .

#### 4.7.3.3. Cepa C4.

Para el caso de esta cepa, el potencial de corrosión ha sido desplazado de -780 mV a -105 mV, es decir, al menos 650 mV en sentido anódico. Este comportamiento también se observó en la curva de Tafel, sin embargo en esta misma, la velocidad de corrosión no es muy distinta con

respecto al Blanco, lo que no sucede en  $R_p$ , en donde se observa que la Cepa C4 presenta una  $R_p$  de  $20,000 \Omega\text{-cm}^2$ , que comparada con el Blanco ( $2387 \Omega\text{-cm}^2$ ) es una diferencia muy grande, lo que indica que la velocidad de corrosión sería mucho menor para la cepa C4. Esto no concuerda con lo observado en la curva de Tafel, en donde el comportamiento es muy similar al Blanco. La única manera de explicar este fenómeno es que la velocidad de corrosión disminuya debido a que la prueba se realizara en la fase de muerte respecto a la curva de crecimiento, la producción de  $\text{H}_2\text{S}$  ha disminuido en gran medida, y esto podría explicar de alguna manera la disminución de la velocidad de corrosión.

#### 4.7.3.4. Cepa M21.

En esta Cepa el potencial de corrosión se ha desplazado anódicamente de casi  $-800 \text{ mV}$  (Blanco) hasta aproximadamente  $-100 \text{ mV}$ , indicando a primera vista una posible pasivación, sin embargo, de igual forma que en la respuesta obtenida por la Extrapolación de Tafel al analizar la  $R_p$  ( $68 \Omega\text{-cm}^2$ ) la velocidad de corrosión es mucho mayor que la obtenida en el Blanco ( $2350 \Omega\text{-cm}^2$ ), lo cual indica la agresividad del medio, es decir, dado que esta cepa produce  $\text{H}_2\text{S}$  se esperaba que la velocidad de corrosión aumentara, esto sucede tanto en Tafel como en  $R_p$ .

#### 4.7.3.5. Cepa M20.

En esta gráfica (Figura 4.17) se observa que el potencial de corrosión se ha desplazado al menos  $400 \text{ mV}$  en sentido anódico, lo cual concuerda con lo analizado en la curva de Tafel para esta misma Cepa con respecto al Blanco, y cuya  $R_p$  es de  $4863 \Omega\text{-cm}^2$ , lo que indica una disminución en la velocidad de corrosión con respecto a la  $R_p$  del Blanco, esto nuevamente nos

lleva a comparar los resultados obtenidos en la curva de Tafel, en donde se observa una posible pasivación, así como una pequeña disminución en la velocidad de corrosión, y estos resultados respaldan lo antes mencionado.

#### **4.7.4. Espectroscopia de Impedancia Electroquímica.**

**4.7.4.1. Blanco** No se realizó.

##### **4.7.4.2 Cepa C1.**

En este diagrama de Nyquist (Figura 4.18) se distingue un comportamiento capacitivo y por lo tanto no se observa la formación de un semicírculo como tal, sin embargo se ve que los valores de resistencia en el eje real no son muy grandes, lo que en su momento podría indicar que la resistencia a la transferencia de carga es pequeña ( $5 \times 10^2 \Omega\text{-cm}^2$ ) comparada con la obtenida en la Cepa C4 ( $1 \times 10^4 \Omega\text{-cm}^2$ ) lo que estaría indicando que la velocidad de corrosión a partir de la  $R_p$  es mayor que la obtenida en la Cepa C4. Esto se puede corroborar observando los respectivos diagramas de Bode, donde se ve en la gráfica de Impedancia vs. Frecuencia que se obtiene una sola pendiente, la cual se puede atribuir a un sistema controlado por transferencia de carga y cuya impedancia total es en baja frecuencia de  $5 \times 10^2 \Omega\text{-cm}^2$ . Si se analiza la información obtenida con la impedancia y se compara con las curvas de polarización y la Extrapolación de Tafel se puede observar que efectivamente las tres respuestas electroquímicas indican que la velocidad de corrosión es mayor que la obtenida para la Cepa C4 y para el Blanco, esto indica que la Cepa C1 es mucho más agresiva con el sustrato que las antes mencionadas.

#### 4.7.4.3. Ceba C4.

En este diagrama de Niquyst (Figura 4.19) se puede observar la existencia de un solo semicírculo correspondiente a un fenómeno controlado por transferencia de carga atribuido a las reacciones de óxido-reducción que se llevan a cabo en este medio con el Acero API X-65. En donde se ve que el diámetro de este semicírculo, si se pudiera extrapolar, sería demasiado grande (aproximadamente  $40-50,000 \Omega\text{-cm}^2$ ), lo que indirectamente indica que la velocidad de corrosión a partir de la  $R_p$  es muy pequeña comparada con la velocidad obtenida en el Blanco, este resultado es apoyado de manera directa por la curva de polarización obtenida para esta misma Ceba, así como de la Extrapolación de Tafel. Incluso la  $i_{\text{corr}}$  se puede comparar en cuanto a magnitud a partir de la curva de polarización y la impedancia.

En el diagrama de Bode, se observa en la gráfica ángulo de fase vs. Frecuencia, una sola constante de tiempo que se presenta a bajas frecuencias ( $10^{-1}$ ) correspondiente a un sistema controlado por transferencia de carga, lo que se puede respaldar observando la gráfica de Impedancia vs. Frecuencia en donde se puede observar solamente una pendiente que de igual forma corresponde con un sistema controlado por transferencia de carga en donde se observa una impedancia total de  $10^4 \Omega\text{-cm}^2$ .

#### 4.7.4.4. Ceba M21.

En el diagrama de Nyquist (Figura 4.20) se observa que existe probablemente la formación de dos semicírculos, uno más definido que el otro, se presenta a bajas frecuencias y el inicio del que se presume sería el segundo semicírculo que también se presenta a bajas frecuencias. La única forma de explicar la presencia del primer semicírculo es que este corresponda a la formación del

biofilm y el segundo semicírculo a un fenómeno de transferencia de carga. Cabe señalar que el primer semicírculo, si se extrapolara para definirlo mejor tendría una resistencia muy pequeña, y esto concuerda de manera directa con lo que sería la formación de un biofilm, del cual ya se había discutido su presencia en la respuesta obtenida en la Extrapolación de Tafel, en donde es importante acentuar que a potenciales de aproximadamente 70 mV se presenta una pequeña pseudo pasivación que se asocia con dicho biofilm; el cual es muy inestable. La presencia del segundo semicírculo a pesar de no estar bien definido; se puede predecir que la resistencia de este no será muy grande, esto se puede corroborar en el diagrama de Bode, en donde se observa que la impedancia total del sistema es de aproximadamente  $3 \times 10^1 \Omega \cdot \text{cm}^2$  lo que indica que la velocidad de corrosión a partir de la  $R_p$  sería mucho mayor que la obtenida para las Cepas C4 y C1, así como para el Blanco. Es importante reiterar que las respuestas electroquímicas tanto de Impedancia como de las curvas de polarización y Extrapolación de Tafel indican que la velocidad de corrosión para esta Cepa es muy grande comparada con los otros sistemas, así como con el Blanco, lo que confirma que este sistema es el más agresivo con el sustrato. Lo anterior se puede ver más claramente en la figura 4.20.

#### 4.7.4.5. Mecanismo de Corrosión.

De acuerdo a los resultados obtenidos en las técnicas electroquímicas aplicadas, se puede observar que todas las cepas presentan un desplazamiento del potencial de corrosión en sentido anódico comparado con el potencial de corrosión del Blanco (medio de cultivo sin microorganismos), éstas al ser analizadas en conjunto con la velocidad de corrosión calculada para cada una de las cepas. Es posible demostrar que existen al menos tres diferentes causas o mecanismos que podrían explicar dicho comportamiento, para lo cual es necesario emplear los diagramas de Evans-Tafel.

**Blanco.**

Para este caso se inicia analizando la respuesta electroquímica en todas las técnicas. El acero API X65 en un medio cuyo pH es de 7.35 (neutro) debería tener un potencial de corrosión aproximado de  $-400$  a  $-500$  mV vs. Pt/Pt, sin embargo al realizar las pruebas, este potencial se registró en un valor de  $-780$  a  $-785$  mV vs. Pt/Pt (ver tabla 4.12), que es un potencial muy activo para este medio, esto se podría expresar mediante el diagrama de la figura 4.21.

Existen dos posibilidades para explicar este desplazamiento. Una es la **despolarización anódica**, en cuyo caso el potencial se desplaza en sentido negativo y la velocidad de corrosión aumenta; la otra es la **polarización catódica**, en cuyo caso el potencial se desplaza en sentido negativo pero la velocidad de corrosión disminuye con respecto al acero sumergido en un electrolito con pH neutro, por ejemplo agua destilada. No obstante, la primera posibilidad parece ser la más indicada para explicar este comportamiento debido a que la velocidad de corrosión en este medio (Blanco) es alta (1.5 mpy a 3.7 mpy).

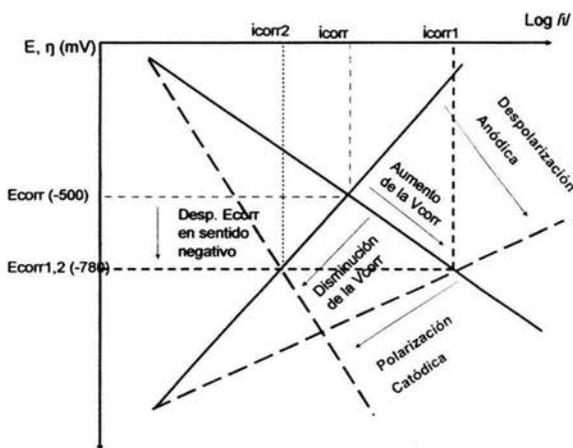


Figura 4.21. Diagrama de Evans-Tafel, posible mecanismo de corrosión para el Blanco.

## Cepa C1 y M21.

En estas dos cepas se observa un gran desplazamiento del potencial de corrosión en sentido anódico con respecto al registrado en el Blanco, así como un aumento en la velocidad de corrosión (ver tablas 4.10, 4.11 y 4.12), por lo que este comportamiento se puede explicar en el diagrama de la figura 4.22, que indica que la única posibilidad que existe como mecanismo de corrosión presente es una *despolarización catódica*. Es decir que, dado que existe la presencia de  $H_2S$ , el pH del medio es ácido, y por lo general el proceso está controlado por la difusión del  $H_2S$  en el cátodo, esto produce  $H_2$  que a su vez provoca una despolarización catódica.

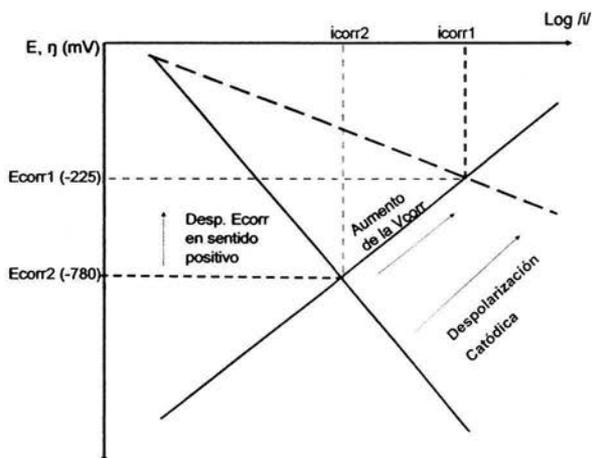


Figura 4.22. Diagrama de Evans-Tafel, posible mecanismo de corrosión para las Cepas C1 y M21.

## Cepa C4 y M20.

En estas dos cepas hay un desplazamiento del potencial de corrosión en sentido anódico respecto al obtenido en el Blanco, pero a diferencia de las cepas C1 y M21, éstas presentan una disminución en la velocidad de corrosión también en relación al Blanco (ver tablas 4.10, 4.11 y 4.12). Esto se expresa en el diagrama presentado en la figura 4.23, que indica que la única posibilidad para explicar este comportamiento es una *polarización anódica*.

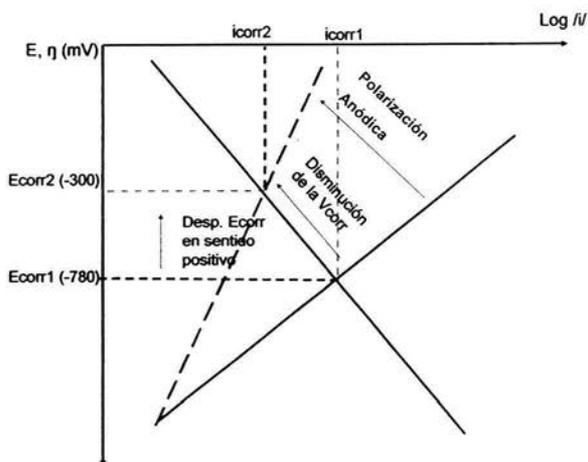


Figura 4.23. Diagrama de Evans-Tafel, posible mecanismo de corrosión para las Cepas C4 y M20.

MEDIO	Rp-E <sub>corr</sub> (mV)	Tafel-E <sub>corr</sub> (mV)	EIS-E <sub>corr</sub> (mV)
BLANCO	-785	-780	---
BLANCO	-780	---	---
CEPA C1	-85	-230	-84
CEPA C4	-115	-180	-101
CEPA C4	-105	---	---
CEPA M21	-100	-200	-143
CEPA M20	-385	-450	---

Tabla 4.12. Cuadro de los potenciales de corrosión obtenidos en las técnicas electroquímicas.

#### 4.8. Identificación de la Presencia de Microorganismos por Técnicas de Microscopía.

Según el procedimiento API (1965) No.38, el periodo de crecimiento óptimo de los microorganismos en las muestras debe de ser por un periodo de hasta 28 días, para observar un buen crecimiento. Las muestras se observaron al microscopio óptico ocho días después de ser sembradas debido a la presencia de una coloración oscura por el sulfuro de hierro lo cual da un indicio de la presencia de bacterias sulfatorreductoras como cocos y bacilos principalmente (Figura 4.24), demostrando el crecimiento de bacterias en el medio utilizado.

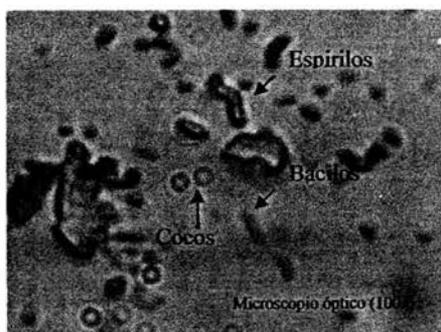


Figura 4.24. Crecimiento de bacterias (cocos y bacilos) en medio API RP38.



Figura 4.25. Crecimiento de colonias en medio API RP38.

En las muestras aisladas se observa el crecimiento de colonias (Figura 4.25) con la formación de sulfuro de hierro, en algunas muestras el crecimiento no se observó. Lo cual puede deberse a la pérdida de las condiciones de anaerobiosis en algún momento de la preparación. Se observa también que no siempre se formó el precipitado de sulfuro de hierro, sin embargo el análisis microscópico evidenció la presencia de microorganismos. Esto es un indicio de que la

formación del sulfuro de hierro no demuestra que existan bacterias en el medio y que por el contrario la presencia del sulfuro así como la rápida formación de este precipitado puede ser debido a la cantidad de hierro en el medio de cultivo y no a la presencia de organismos (Figura 4.26).

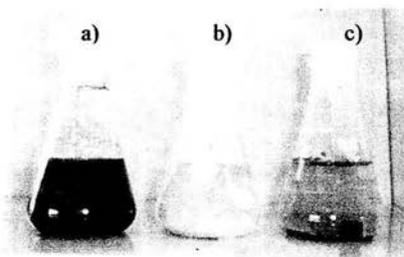


Figura 4.26. Muestras a) con crecimiento, b) sin crecimiento aparente c) pérdida de anaerobiosis.

De las imágenes obtenidas en el Microscopio Electrónico de Barrido se observa (Figura 4.27 y Figura 4.31) la presencia de cocos y bacilos a diferentes aumentos, además se pudo identificar la biopelícula formada (Figuras 4.28 y 4.29), verificando esto al realizar un análisis puntual EDS (Figura 4.30) que revela la presencia de azufre y hierro, componentes que están presentes típicamente en la biopelícula cuando se trata de bacterias sulfatorreductoras. Las fotografías conseguidas en el Microscopio Electrónico de Barrido JEOL 5900LV en la modalidad de alto vacío son las siguientes:

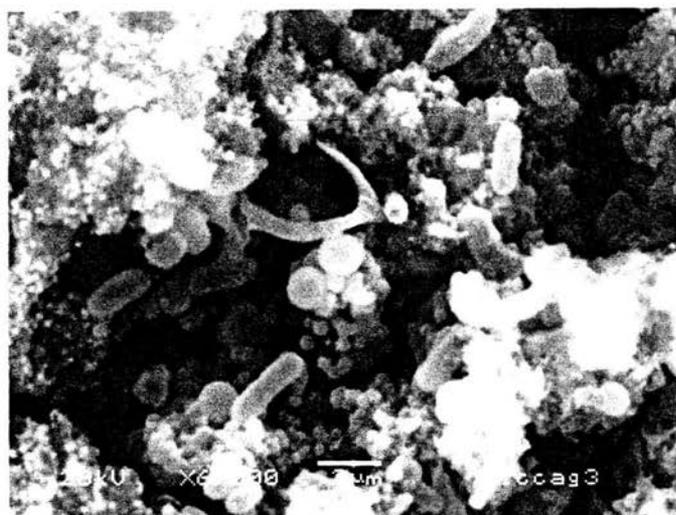


Figura 4.27. Se observan bacilos y cocos en una muestra recubierta con plata.

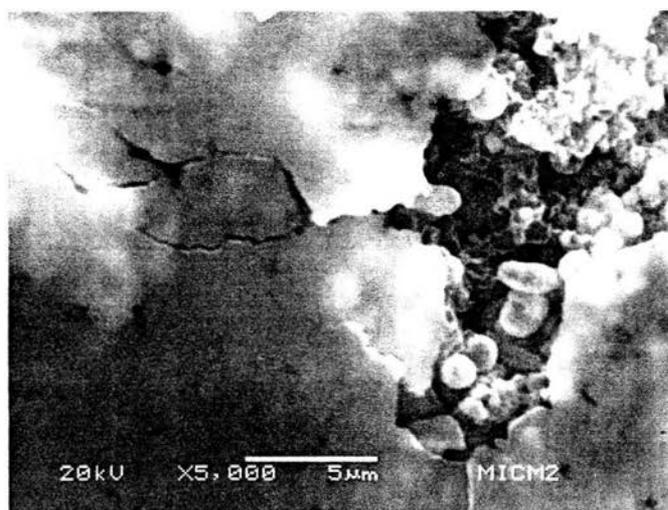


Figura 4.28. Rompimiento de la biopelícula de la Cepa M21, muestra fijada con tetraóxido de osmio y recubierta con plata.

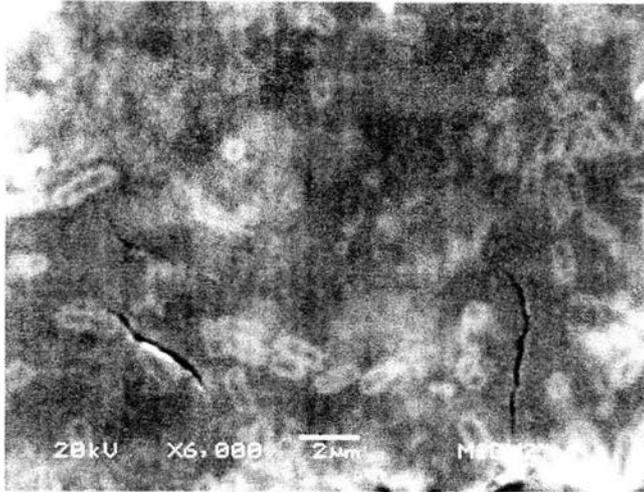


Figura 4.29. Biopelícula observada en la muestra de la cepa M21, al cual se le realiza análisis EDS.

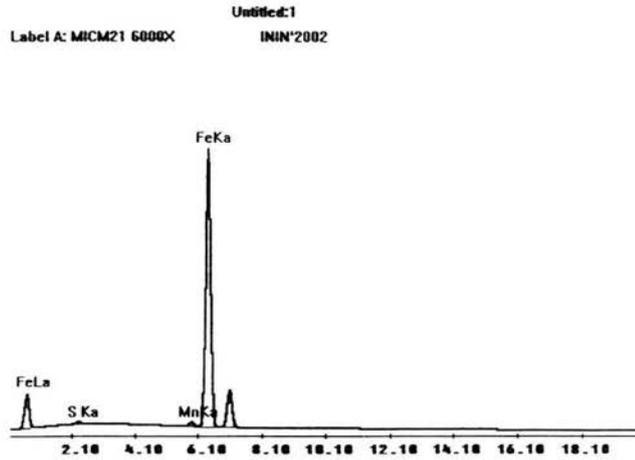


Figura 4.30. Espectro obtenido en el análisis puntual EDS a la biopelícula formada en una muestra M21.

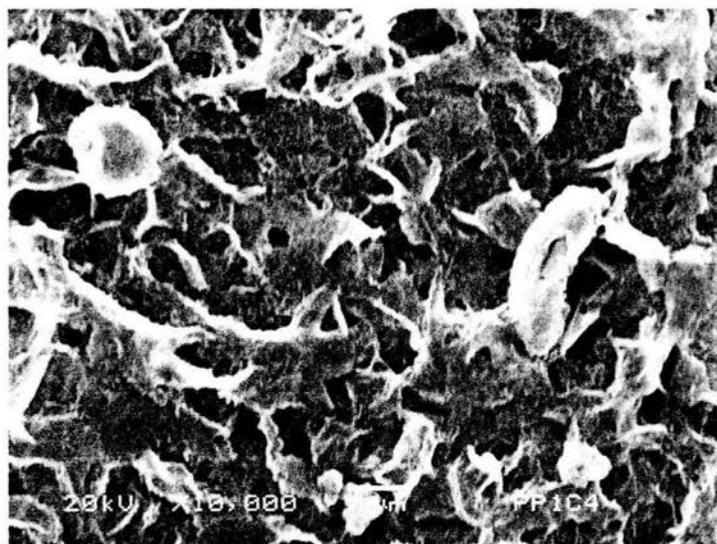


Figura 4.31. Cepa C4, muestra sin fijación ni recubrimiento.

---

# **CAPÍTULO V**

# **CONCLUSIONES**

---

---

**5.0. CONCLUSIONES.**

- ❖ Un cambio a coloración negra de la muestra bajo estudio, indica la presencia de sulfuro de hierro, sin embargo, este compuesto puede ser generado a partir del hierro presente en el medio de cultivo; por lo que aún con un cambio evidente en la coloración, es necesario confirmar la presencia de microorganismos utilizando técnicas auxiliares como tinción de Gram y el método de Cord - Ruwisch.
- ❖ Las bacterias asociadas al fenómeno de corrosión en la superficie de los especímenes, poseen la morfología de bacilos y cocos.
- ❖ La cepa más agresiva para este acero es la cepa M21, sin embargo es la segunda que produce  $H_2S$ , mientras que la cepa C1 es la mayor productora de  $H_2S$ . Las cepas C4 y M20 son las menos agresivas y son las menos productoras de  $H_2S$ .
- ❖ Las gráficas de cinética de crecimiento señalan que las cepas más agresivas tienen un tiempo de vida aproximado de 264 horas y son en las que se presentan claramente las cuatro fases esenciales de una curva de crecimiento convencional.
- ❖ Para el caso específico de este trabajo las tres pruebas electroquímicas proporcionaron la misma información, valores cercanos con las mismas tendencias. Por lo tanto se recomienda utilizar al menos dos técnicas electroquímicas para obtener resultados más confiables.
- ❖ Se aporta evidencia que soporta lo reportado en la literatura, en donde el mecanismo que controla es la despolarización catódica.
- ❖ Aunque en la literatura se reporta que la mejor técnica electroquímica para el estudio de la corrosión microbiológica es el ruido electroquímico (EN), la Extrapolación de Tafel, la Resistencia a la polarización y la Espectroscopia de Impedancia Electroquímica proporcionaron resultados confiables y convincentes.

---

**CAPÍTULO VI**  
**BIBLIOGRAFÍA**

---

- 1.- López Quiñones F., Almeraya-Calderón F., Domínguez S.G., Gaona Tiburcio C., J.G. Chacón N., Martínez Villafañe A, "Efecto del pH en la corrosión por sulfobacterias de los aceros 1015 y 316", apuntes CIMAV, Chihuahua, Chih, México, 2001, pp. 1,2.
- 2.- Cabrera Lozano Donaciano, Romero Domínguez Juan Manuel, "Corrosión Microbiológica, (Jornadas didácticas en Corrosión)", Ed. AMIC 1ª Ed, México, D.F., 1993.
- 3.- Videla A. Héctor, "Manual Práctico de Corrosión y Biofouling para la Industria", Ed. CYTED, La Plata, Argentina, 1995.
- 4.- Gaines, R. H, N. Engineer Industry Chemical 2, 1910, pp. 128.
- 5.- Iverson W.P, Fontana M. G, Staehle, R. W, "Biological Corrosion, Advances in Corrosion Science and Technology", Ed. Plenum, London, 1972.
- 6.- Booth, G. H, "Bacterial Corrosion", Discovery, 1964, pp. 524-527.
- 7.- Dominique Thierry, Wolfgang Sand, "Microbially Influenced Corrosion", Cap. 13, 1991.
- 8.- Ching-Gang Peng, Jae K. Parks, "Electrochemical mechanisms of corrosion influenced by sulfate reducing bacteria in aquatic systems", wat. res. Vol. 28, pp. 1681-1692.
- 9.- Ykikuchi, Matsuda, "MIC of metal welds", Journal of the Japan Welding Society, 1995, 64 (2).
- 10.- Iverson W, Olson G. J, Heverly, L. F., "The role of Phosphorus and Hydrogen Sulfide in the anaerobic corrosion of Iron and the possible detection of this corrosion by an Electrochemical Noise Technique", Proceedings of the International Conference on Biologically Induced Corrosion, Maryland, USA, 1985.

- 
- 11.- D. J. Duquette, R. E. Ricker, "Electrochemical aspects of MIC", ASM Metals Handbook, vol. MIC, ASM International, Metals Park, Ohio, USA, 1987.
  - 12.- J.G. Stoecker, "Microbiological and electrochemical types of corrosion, Back to basics", Materials performance, May, 1995.
  - 13.- Chantereau Jean, Laugier R, Leluc R, "Corrosion bacteriana", Ed. Limusa, México, 1985.
  - 14.- Grainger J. M, Lynch J. M, "Microbiological methods for environmental biotechnology", Academic Press, Inc., London, 1986.
  - 15.- Little, B, Wagner, P. A, "Microbiologically Influenced Corrosion", Vol. 5, NACE International, Houston, Texas, 1997.
  - 16.- Palleroni, N, La Roche Hoffman, "Principios generales de microbiología", New Jersey, USA, 1970, pp. 31-123.
  - 17.- Becerril Reyes Ventura, "Biolixiviación de un concentrado mineral constituido básicamente de calcopirita a 35 °C", Tesis UNAM, Facultad de Química, México, 2002.
  - 18.- Genescá, Joan, "La corrosión de materiales metálicos", Boletín de la Academia Mexicana de Materiales, No. 1, Vol. 1, 1996.
  - 19.- Genescá, Joan, "Más allá de la herrumbre, II. La lucha contra la corrosión".1ª Ed. Fondo de Cultura Económica, México, 1989.
  - 20.- Castro, Pedro, "Corrosión en estructuras de concreto armado", Instituto Mexicano del Cemento y del Concreto, A. C, México, 2ª Ed., 2001.

- 
- 21.- Genescá, Joan, "Más allá de la herrumbre", Fondo de Cultura Económica, México. 1987.
  - 22.- Genescá, Joan, "Basics of corrosion measurements", EGG Princeton Applied Research, USA, 1982.
  - 23.- Cottis, R, Turgoose S, Syrett B, "Electrochemical impedance and noise", series editor, NACE International.
  - 24.- Onofre Bustamante Edgar, "Seguimiento y control de la protección catódica por ánodos galvánicos de zinc sobre armaduras metálicas de concreto por EIS", Tesis UNAM. Facultad de Química, México, 2001.
  - 25.- Vázquez Ruiz Gloria, "Aislamiento e identificación de microorganismos que inducen corrosión microbológica en metales", Tesis UAEM, Edo. de México, 1999.
  - 26.- Watnick, P, Kolter R, "Biofilm, city of microbes", Boston, Massachusetts, 2000.
  - 27.- Suárez Contreras Sergio, "Determinación de algunos parámetros de crecimiento de una cepa bacteriana sulfatorreductora (M-8) con posible acción corrosiva", Reporte técnico, ININ, Edo. de México, 2001.
  - 28.- Suárez C. S., Pérez F. L., Arredondo H. S. Determinación de algunos parámetros de crecimiento de una cepa bacteriana sulfatorreductora (C4) con posible acción corrosiva, Presentación como póster, ININ, Edo. de México, 2002.
  - 29.- González, Bárcenas Beatriz, "Plática de la Maestra Gloria López Jiménez", Programa de Biotecnología para el Petróleo, Gaceta IMP, México, 2000.

- 30.- Little, B, Ray, R. R and Wagner, P. A, "Environmental scanning electron microscopy applied to microbiologically influenced corrosion studies", Naval Oceanographic and Atmospheric Research Laboratory Stennis Space Center, Mississippi, 1992, pp. 539-557.
- 31.- "Microbial Corrosion", Workshop Proceedings, EPRI, North Carolina, USA, 1988.
- 32.- S. Daumas, M. Magot, "Measurement of the net production of acidity by a sulphate-reducing bacterium: experimental checking of the theoretical models of microbially influenced corrosion", Res. Microbiol, París, Francia, 1993.
- 33.- Aballe, M, López J, Badilla, M y Aveda, P., "Microscopía Electrónica de Barrido y Análisis por Rayos X", Ed. Rueda, España, 1996, pp. 476.
- 34.- R. Cord – Ruwisch, A quick method for the determination of dissolved and precipitated sulfides in cultures of sulfate-reducing bacteria, Journal of Microbiological Methods, 4, Elsevier Science Publishers B.V., Marseille Cédex, France, 1985, pp. 33-36.