



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE INGENIERÍA

**“ESTUDIO DE LA BIOCORROSIÓN
UTILIZANDO TÉCNICAS
ELECTROQUÍMICAS DE BAJO CAMPO”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO MECÁNICO

P R E S E N T A :

OSCAR HUMBERTO DÍAZ SÁNCHEZ

DIRECTOR DE TESIS :

DR. CARLOS ALBERTO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ



CD. UNIVERSITARIA

2012



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.

Relación de Figuras

Figura 1.1. Esquema de interacciones que se pueden establecer entre dos cuerpos y las distancias para las que estas interacciones son significativas.	...2
Figura 1.2. Representación esquemática de las energías interfaciales tras la adhesión de un microorganismo (M) suspendidas en un líquido (L) en una superficie (S). (a) no adhesión (b) adhesión.	...3
Figura 1.3. Árbol filogenético de los seres vivos, establecido después de las secuencias de genes de rRNA 16S. La longitud de las ramas es proporcional a la divergencia genética.	...4
Figura 1.4. Estructura general de una célula bacteriana.	...6
Figura 1.5. Representación esquemática del metabolismo de la energía de las bacterias.	...7
Figura 1.6. Representación esquemática del metabolismo energético de las <i>BSR</i>8
Figura 1.7. Desarrollo de biopelícula en sustrato metálico.	...12
Figura 2.1. Representación esquemática del sistema de la corrosión en los fenómenos de biodeterioro de los materiales metálicos.	...14
Figura 2.2. Representación de la densidad de curvas de corriente (I) frente al potencial (E): potencial de corrosión libre E_{corr} influenciado por bacterias.	...15
Figura 2.3. Acción de las ferrobacterias.	...17
Figura 2.4. Vista esquemática del fenómeno de la diferencia de aireación en una biopelícula firmemente establecida.	...19
Figura 3.1. Micrografía del acero AISI 1018 atacado con nital 3 durante 8s a 800X con MEB. Fase oscura (ferrita), fase clara (perlita).	...21
Figura 3.2. Probeta y electrodo de trabajo.	...21
Figura 3.3. Dispositivos acoplados para control de variables.	...22
Figura 3.4. Celda electroquímica del sistema propuesto.	...22
Figura 3.5. Curva típica de crecimiento bacteriano: a) fase de latencia, b) fase logarítmica, c) fase estacionaria y d) fase de muerte.	...25
Figura 4.1. Curva de crecimiento de <i>BSR</i> en medio NACE y Posgate durante 350h a 37°C.	...27
Figura 4.2. Variación con el tiempo del Potencial a circuito abierto del acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional Posgate y NACE a 37°C ±2°C.	...29
Figura 4.3. Diagrama de Nyquist y Bode para el acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional Posgate en ausencia de <i>BSR</i> a 37°C ±2°C durante 24 horas.	...30
Figura 4.4. Diagrama de Nyquist y Bode para el acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional Posgate en ausencia de <i>BSR</i> a 37°C ±2°C durante 48 horas.	...31
Figura 4.5. Velocidades de corrosión en mpy obtenidas por EIE del acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional Posgate en ausencia de <i>BSR</i> a 37°C ±2°C.	...33

Figura 4.6. Diagrama de Nyquist y Bode para el acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional NACE en ausencia de <i>BSR</i> a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas.	...34
Figura 4.7. Diagrama de Nyquist y Bode para el acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional NACE en ausencia de <i>BSR</i> a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas.	...35
Figura 4.8. Velocidades de corrosión en mpy obtenidas por EIE del acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional NACE en ausencia de <i>BSR</i> a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$37
Figura 4.9. Diagrama de Nyquist y Bode para el acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional NACE en presencia de <i>BSR</i> a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 350 horas.	...39
Figura 4.10. Curva de crecimiento y V_{corr} (mpy) para el acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional NACE en presencia de <i>BSR</i> a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 350 horas.	...41
Figura 4.11. Diagrama de Nyquist y Bode para el acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional Posgate en presencia de <i>BSR</i> a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 350 horas.	...42
Figura 4.12. Curva de crecimiento y V_{corr} (mpy) para el acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional Posgate en presencia de <i>BSR</i> a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 350 horas.	...44
Figura A.1. Ecuación de Tafel.	...50
Figura A.2. Extrapolación de Tafel para predecir velocidades de corrosión.	...51
Figura A.3. Curva de polarización hipotética de un sistema pasivable.	...52
Figura A.4. Esquema de señal de entrada y respuesta en función del tiempo.	...53
Figura A.5. Esquema del diagrama de Nyquist con vector de impedancia.	...54
Figura A.6. Diagrama de Nyquist y su circuito equivalente.	...55
Figura A.7. Diagrama de Nyquist para un sistema controlado por difusión y su correspondiente circuito equivalente.	...55
Figura A.8. Diagrama de Bode.	...56
Figura A.9. Esquema de un sistema medido con la técnica de ruido electroquímico.	...57

Relación de Tablas

Tabla 1.1. Órdenes de magnitud de las poblaciones bacterianas en diferentes ambientes.	...5
Tabla 2.1. Condiciones extremas donde se han detectado bacterias, con posibles fenómenos de biodeterioro.	...13
Tabla 2.2. Principales propuestas de mecanismos de corrosión de aceros de baja aleación por bacterias anaerobias estrictas.	...18
Tabla 3.1. Composición del acero AISI 1018, obtenida por el método de espectroscopia de emisión.	...20
Tabla 3.2. Composición química de los medios de cultivo.	...23
Tabla 3.3. Factor de dilución.	...24

Tabla 4.1. Periodo de tiempo de las fases de crecimiento de la <i>BSR</i> en distintos medios nutricionales, en condiciones anaerobias a 37°C.	...28
Tabla 4.2. Velocidades de corrosión, R_{tc} e I_{corr} obtenidas por EIE del acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional Posgate en ausencia de <i>BSR</i> a 37°C $\pm 2^\circ\text{C}$32
Tabla 4.3. Velocidades de corrosión, R_{tc} e I_{corr} obtenidas por EIE del acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional NACE en ausencia de <i>BSR</i> a 37°C $\pm 2^\circ\text{C}$36
Tabla 4.4. Velocidades de corrosión, R_{tc} e I_{corr} obtenidas por EIE del acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional NACE en presencia de <i>BSR</i> a 37°C $\pm 2^\circ\text{C}$40
Tabla 4.5. Velocidades de corrosión, R_{tc} e I_{corr} obtenidas por EIE del acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional Posgate en presencia de <i>BSR</i> a 37°C $\pm 2^\circ\text{C}$44

Índice

Relación de figuras	...III
Relación de tablas	...IV
Índice	...VI
Prólogo	...VIII

Capítulo 1. Biodeterioro.

1.1. Introducción.	...1
1.1.1. Adhesión de los microorganismos.	...1
1.1.2. Efecto de las macromoléculas en la adhesión.	...3
1.2. Metabolismo de los microorganismos.	...4
1.2.1. Las bacterias y su entorno.	...4
1.2.2. La célula bacteriana.	...6
1.2.3. Metabolismo celular.	...6
1.2.4. Bacteria sulfato-reductora (<i>BSR</i>).	...8
1.3. Metabolismo y la corrosión.	...9
1.3.1. Teoría de la despolarización catódica.	...9
1.3.2. Teoría de la acidificación local.	...9
1.3.3. Metabolismo de la hidrogenasa y la corrosión bacteriana.	...10
1.4. Biopelícula.	...10
1.4.1. Arquitectura de la biopelícula.	...10
1.4.2. Material Polimérico Extracelular.	...11
1.4.3. Actividad asociada al MPE.	...12

Capítulo 2. Mecanismos del Biodeterioro de Materiales Metálicos.

2.1. Introducción.	...13
2.2. Naturaleza de la biocorrosión.	...14
2.3. Papel específico de la biopelícula.	...16
2.4. Medios aireados.	...17
2.5. Medios deaireados.	...17

2.6. Condiciones mixtas o facultativas.	...18
2.7. Influencia de elementos en la aleación.	...19
Capítulo 3. Desarrollo Experimental.	
3.1. Introducción.	...20
3.2. Caracterización del acero.	...20
3.3. Construcción de electrodos de trabajo.	...21
3.4. Curvas de crecimiento.	...23
3.5. Curvas de crecimiento típicas.	...24
3.6. Inicio de las pruebas electroquímicas.	...25
Capítulo 4. Análisis de Resultados.	
4.1. Introducción.	...26
4.2. Curva de crecimiento.	...26
4.3. Potencial a circuito abierto del acero AISI 1018.	...28
4.4. (EIE) de los sistemas en ausencia de BSR.	...30
4.5. (EIE) de los sistemas en presencia de BSR.	...38
Conclusiones.	...45
Apéndice A. Técnicas Electroquímicas.	
A-1. Introducción.	...46
A-2. Potencial a Circuito Abierto.	...47
A-3. Resistencia a la Polarización (R_p).	...48
A-4. Extrapolación de Tafel.	...49
A-5. Curvas de Polarización.	...51
A-6. Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIE).	...53
A-7. Ruido Electroquímico (RE).	...56
Bibliografía.	...60

Prólogo.

La corrosión es el ataque destructivo de un material al reaccionar con su medio ambiente. Las graves consecuencias del proceso de corrosión lo han convertido en un problema mayor de importancia en todo el mundo. Además de encuentros directos y cotidianos con esta forma de deterioro, la corrosión también puede desencadenar una serie de problemas socioeconómicos como el cierre de plantas de producción, el desperdicio de recursos valiosos, pérdidas o contaminación de los productos, menor eficiencia en los procesos, mayores costos de mantenimiento, lo que conlleva a diseños demasiado caros inhibiendo así el progreso tecnológico, sin mencionar a detalle los daños que pueden generar en la salud y seguridad del hombre. Un ejemplo de los daños ocasionados por la corrosión, fue la explosión del alcantarillado en Guadalajara, México en abril de 1992 en el que murieron más de 200 personas y más de 500 resultaron heridas. Se estableció que dicho desastre se originó por una celda de corrosión entre tuberías que transportaban agua e hidrocarburos así como la humedad en el subsuelo, los costos ocasionados por estos daños se estimaron en 75 millones de dólares [1].

La pérdida de material bajo la influencia biológica es la que se denomina corrosión influenciada por microorganismos (CIM) o biocorrosión. Para análisis, donde el sistema está compuesto por un material metálico, microorganismos y el medio ambiente, es necesaria la participación de grupos pluridisciplinarios ya que asocia diferentes áreas del conocimiento como la química, metalurgia, microbiología, bioquímica, fisicoquímica, ciencia de materiales y ciencia de superficies para el estudio del asentamiento, adhesión y formación de biopelícula por bacterias y organismos, así como áreas de la medicina y odontología cuando la biopelícula se presenta en algún implante en el cuerpo. Los costos anuales directos y derivados de la corrosión se estiman en alrededor del 4% del PIB de los países desarrollados, del cual entre 10-20% está relacionado a la biocorrosión. En la industria petrolera y de los hidrocarburos, los costos de biocorrosión aumentan entre un 15-30% [2].

En el presente estudio se altera el medio electroquímico y el sustrato metálico con una cepa de bacterias sulfato reductoras (BSR), las cuales crecen y se desarrollan en ausencia de oxígeno dentro de capas protectoras adheridas al sustrato metálico, constituidos por material polimérico extracelular (MPE), elemento importante para un posible deterioro o protección del metal. Se empleo la técnica de Espectroscopía de Impedancia Electroquímica y Potencial a Circuito Abierto, ya que el grado de perturbación de éstas no modifica electroquímicamente el

sistema, con lo cual se pretende mostrar que son un recurso viable para identificar los procesos que se llevan a cabo en la interfase, donde las interacciones de varios elementos pueden inducir cambios inesperados.

Oscar H. Díaz Sánchez
Febrero de 2013

Capítulo 1.

Biodeterioro.

1.1. Introducción

La adhesión de un microorganismo en una superficie sólida es un proceso complejo que involucra a dos superficies, de las cuales una es biológica. La diversidad de elementos involucrados y los diferentes tipos de interacciones material/superficie microbiana, ya sea específica o no específica, complica aún más el análisis y la interpretación de los datos. En el caso de las interacciones específicas, sólo se toman en cuenta las fuerzas entre los grupos localizados en la superficie de los organismos involucrados. Por el contrario, por interacciones no específicas, se toman en cuenta solo las fuerzas integradas en toda la superficie del cuerpo.

Los enfoques fisicoquímico y biológico, son complementarios y esenciales para identificar los diferentes aspectos del problema y comprender mejor los mecanismos que ocurren en la interfase. A continuación se muestra la adhesión desde un enfoque fisicoquímico. En él las células se identifican como partículas coloidales ideales, esféricas, rígidas y con un área claramente definida y uniforme [3].

1.1.1. Adhesión de los microorganismos.

Las interacciones entre los microorganismos y sólidos se pueden plantear con la teoría DLVO (Derjaguin y Landau (1941), y Verwey y Overbeek (1948)), o también llamada teoría de la estabilidad del estado coloidal, ya que provee una descripción cuantitativa de la estabilidad de los coloides liofóbicos. Según esta teoría, la adhesión microbiana es el resultado del equilibrio entre las fuerzas de Van der Waals, junto con la interacción electrostática o de doble capa eléctrica [4]. Así la energía libre total de interacción, ΔG^{TOT} entre el microorganismo y el sustrato, separados por una distancia d , es la suma de las energías libres asociada con interacciones atractivas de Van der Waals, ΔG^{LW} y las interacciones electrostáticas o de doble capa, ΔG^{EL} . Esta energía es modulada por la fuerza iónica del medio y disminuye con la distancia de separación entre los cuerpos.

$$\Delta G^{\text{TOT}} = \Delta G^{\text{LW}} + \Delta G^{\text{EL}} \quad \dots 1$$

Aunque esta teoría es una herramienta útil para estudiar la adhesión de los microorganismos, donde considera las interacciones de largo alcance, no es de utilidad para estudiar el comportamiento de un microorganismo en las inmediaciones de la superficie, especialmente en un medio acuoso, donde se presentan las interacciones polares las cuales se relacionan con fuerzas de interacción entre dos cuerpos a cortas distancias, debido a la capacidad del agua para formar puentes de hidrógeno, entre los átomos de una superficie electronegativa (O, Cl, F, N) y los átomos de hidrógeno de la molécula de agua o entre los átomos de hidrógeno de las superficies y el átomo de oxígeno de la molécula de agua.

El enfoque de la teoría DLVO puede ampliarse para tener en cuenta las interacciones de distancia relativamente cortas en las que participan las dos superficies y el agua de disolución. Para ello, se puede agregar en la energía libre total de interacción (teoría DLVO extendida por Van Oss et al (1994)) [5] un término de la forma $A^{(-d/\lambda)}$, donde A es positivo o negativo con respecto a si la fuerza es repulsiva o de atracción, d es la distancia entre la superficie y λ es una distancia que caracteriza a la atenuación de las fuerzas en función de la distancia desde la superficie, siendo del orden de nm (figura 1.1).

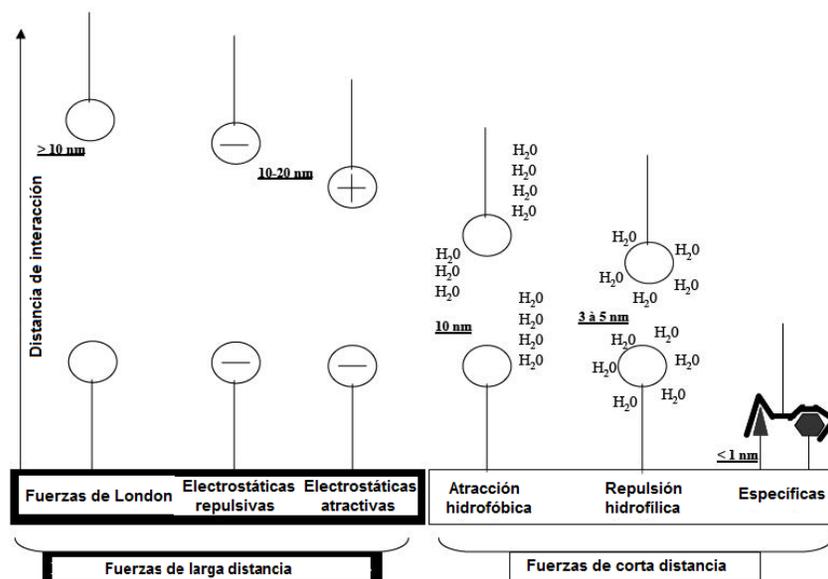


Figura 1.1. Esquema de interacciones que se pueden establecer entre dos cuerpos y las distancias para las que estas interacciones son significativas [3].

La teoría de la humedad dada por la termodinámica de las superficies es otro método que puede predecir la adhesión de un microorganismo en una superficie sólida. Se basa en la ecuación de Dupré, aplicado a un microorganismo-sólido-líquido como se muestra en la figura 1.2.

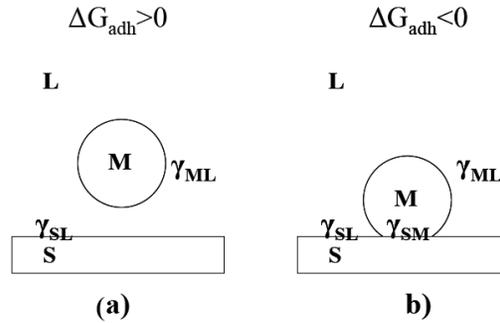


Figura 1.2. Representación esquemática de las energías interfaciales tras la adhesión de un microorganismo (M) suspendidas en un líquido (L) en una superficie (S). (a) no adhesión (b) adhesión [3].

La adhesión de un microorganismo a la superficie sólida corresponde a un estado de equilibrio. Es el resultado de la creación de un sistema microorganismo-superficie-interfase, en conjunto con la diferencia entre las interfaces superficie-líquido y líquido-microorganismo. Por lo tanto se considera que la energía libre de adherencia por unidad de superficie de contacto es:

$$\Delta G_{adh} = \Delta G_{MLS} = \gamma_{SM} - \gamma_{ML} - \gamma_{SL} \quad \dots 2$$

donde γ es la energía libre de interfase, la S, M y L son la superficie, el microorganismo y el medio, respectivamente.

Al igual que con todos los sistemas en la naturaleza, el sistema mostrado en la figura 4, tiende hacia un mínimo de energía libre. De acuerdo con la segunda ley de la termodinámica, la adhesión microbiana es un proceso favorecido desde un punto de vista energético. Si el cambio de energía libre que acompaña a $\Delta G_{adh} = \Delta G_{MLS}$ el fenómeno es negativo ($\Delta G_{adh} < 0$) (Figura 1.2 (b)). Por el contrario, si ΔG_{adh} es positivo, la adhesión no tendrá efecto. Este enfoque termodinámico describe un diseño de interfase con ciertas limitantes, dado que no considera las interacciones de Van der Waals [3].

1.1.2. Efecto de las macromoléculas en la adhesión.

Las macromoléculas además de ser adsorbidas por la superficie, son parte integral de la superficie celular, por lo tanto están presentes en la interfase de una célula microbiana y la superficie metálica. En ausencia de interacciones electrostáticas, se presenta repulsión de tipo estérica, donde la aproximación de las superficies tiende a confinar o comprimir las cadenas del polímero, reduciendo su movimiento. Esta adsorción de las macromoléculas en las superficies puede dar lugar a un impedimento estérico que evita el contacto entre compuestos químicos del medio y la superficie metálica [3].

1.2. Metabolismo de los microorganismos.

La acción de los microorganismos que lleva al biodeterioro de los materiales, no es un proceso sencillo, estos procesos metabólicos tienen la única función de obtener energía y carbono de su entorno, sintetizando la materia orgánica para así poder reproducirse. Por ello es necesario conocer los procesos biológicos es decir los mecanismos con que los microorganismos llevan a cabo el biodeterioro de materiales, como es el caso de la corrosión bacteriana en el acero ocasionada por bacterias sulfato reductoras (BSR), que en general se encargan de reducir el sulfato en sulfuro, siendo este último un agente muy corrosivo.

1.2.1. Las bacterias y su entorno.

Las bacterias son los primeros seres vivos que aparecieron en nuestro planeta (3.5 millones de años) y desde entonces ha existido una gran variedad de éstas de acuerdo al lugar de adaptación. La clasificación biológica de los seres vivos se divide en tres dominios, las bacterias están dentro del dominio de las *Bacterias* y *Arqueas*, su principal característica es que su célula no tiene núcleo.

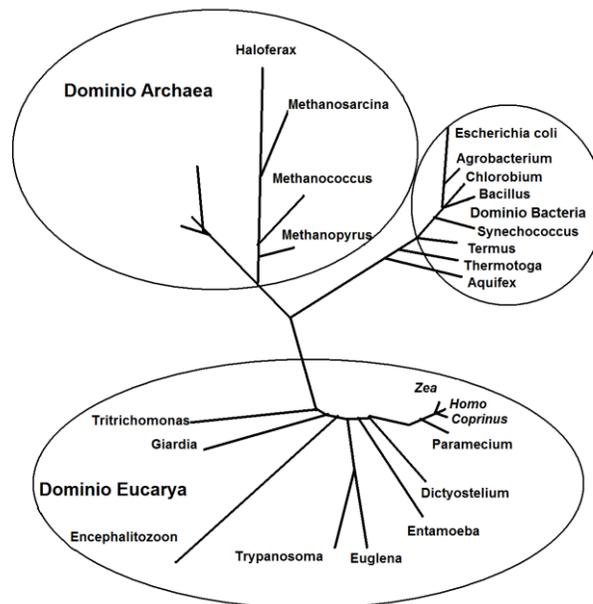


Figura 1.3. Árbol filogenético de los seres vivos, establecido después de las secuencias de genes de rRNA 16S. La longitud de las ramas es proporcional a la divergencia genética.

Se han clasificado mediante un árbol filogenético (figura 1.3), donde la longitud de las ramas es proporcional a las diferencias en los genes. Éstas diferencias reflejan la diversidad de

hábitats y por lo tanto la variedad en sus procesos metabólicos. Las bacterias se han adaptado a diferentes medios como se muestra en la tabla 1.1.

Tabla 1.1. Órdenes de magnitud de las poblaciones bacterianas en diferentes ambientes.

Aire	aire libre	$10^2-10^3/m^3$
	casa	$10^4-10^4/m^3$
	estación	$10^6-10^8/m^3$
Agua	mar	$10^1/ml$
	subterránea	$0-10^6/ml$
	ríos	$10^4-10^5/ml$
	botellas de agua	$10^3-10^5/ml$
Otros	piso	$10^6-10^9/g$
	sedimento	$10^6-10^{10}/g$
	intestinos	$10^{10}-10^{12}/g$
	piel	$10^2-10^5/g$

El aire, agua y suelo son medios que influyen de manera fisicoquímica para que las bacterias se desarrollen adecuadamente, para lo cual existen dos limitantes. La primera es la disponibilidad de nutrientes, ejemplo de ello es el caso de bacterias que habitan un río y que están condicionadas al aporte de terrenos adyacentes, en comparación con bacterias que habitan los intestinos del cuerpo humano donde existe una riqueza de nutrientes. La segunda limitante es la temperatura, aunque se han registrado bacterias aisladas habitando volcanes submarinos donde logran crecer en un entorno de agua salada a temperaturas de congelación. Básicamente los fenómenos de corrosión generados por bacterias se encuentran entre 5 y 60°C de temperatura. Existen otros parámetros fisicoquímicos que pueden limitar el crecimiento de bacterias, ejemplo de ello son los microorganismos halófilos, los cuales pueden desarrollarse en ambientes de aproximadamente 50 g/L de sal, siendo la diversidad en éstos medios bastante bajos, aunque se han registrado pequeños grupos que pueden crecer en un entorno de saturación salina de aproximadamente 300g/L. Se sabe que la alta concentración de esta sal es un medio que favorece la corrosión, pero el papel que tienen las bacterias en este entorno no se ha demostrado de manera concluyente. Aún así la combinación de altos niveles de salinidad con altas temperaturas, son incompatibles para cualquier forma de vida. La radiación, presión, acidez o alcalinidad del medio también son parámetros que actúan como limitantes selectivas para el crecimiento de bacterias. A

excepción de grandes cantidades de radiación, existen ciertas formas de vida que se pueden encontrar bajo parámetros fisicoquímicos extremos [6].

1.2.2. La célula bacteriana.

Las bacterias son organismos unicelulares, es decir, compuestos de una sola unidad estructural llamada célula, a pesar de que la célula bacteriana es compleja y puede variar significativamente de una especie a otra. En la figura 1.4 se describe la estructura elemental que la forma.

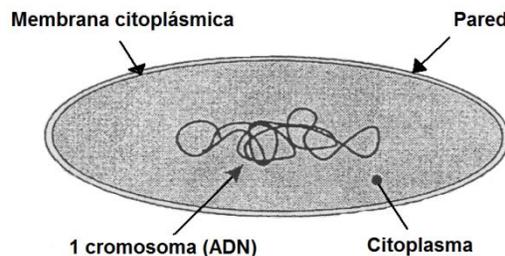


Figura 1.4. Estructura general de una célula bacteriana.

El límite que la mantiene aislada del exterior, es la membrana citoplásmica, la cual es fundamental en los intercambios con el exterior, por sus propiedades selectivas de permeabilidad como es el ingreso de nutrientes, productos metabólicos excretados al ambiente y determinadas fases metabólicas como la respiración.

El material genético de las bacterias y procariotas está disperso en el citoplasma, a diferencia de las eucariotas que se encuentra en el núcleo. Se compone de un solo cromosoma que tiene forma de una molécula de ADN circular, el tamaño de las células varía de entre 0,5-1,5 μm a 1-10 μm siendo éstas las más grandes, con una gran diversidad de morfologías como esferas, bacilos etc. Algunas de estas bacterias pueden nadar o también arrastrarse sobre las superficies, otras como las bacterias sésiles se fijan en la superficie metálica dando origen a la formación de consorcios.

1.2.3. Metabolismo celular.

Los nutrientes obtenidos por la célula bacteriana varían según las fuentes de carbono y energía, siendo éstas dos esenciales para desarrollar en conjunto reacciones bioquímicas coordinadas y reguladas por el metabolismo. Hay dos tipos de actividad metabólica: el anabolismo y

catabolismo. El primero se puede definir como el conjunto de síntesis a partir de nutrientes obtenidos de otras células del medio ambiente y de minerales para formar proteínas, lípidos, polisacáridos, ácidos nucleicos etc. Cuando la fuente de nutrimento es a partir de ciertos compuestos inorgánicos como el dióxido de carbono, se le conoce como organismos autótrofos, y por el contrario si la bacteria se alimenta de sustancias sintetizadas por otros organismos como carbohidratos, lípidos, proteínas y otros compuestos orgánicos se les conoce como organismos heterótrofos. El catabolismo es actividad metabólica donde se realiza la síntesis de moléculas más complejas a moléculas sencillas.

Las bacterias necesitan energía la que obtienen de tres fuentes: compuestos químicos de los minerales (quimioheterótrofos), de los compuestos orgánicos (quimioorganotrofos) y de la luz (fotorófic).)

La energía es recogida y almacenada por la célula y por medio de una sucesión de reacciones de oxidación-reducción (redox), que implican la transferencia de electrones a partir de donantes (reductores) y de aceptores (oxidantes), siendo éstas reacciones los factores nutrimentales más importantes que se llevan a cabo en ésta.

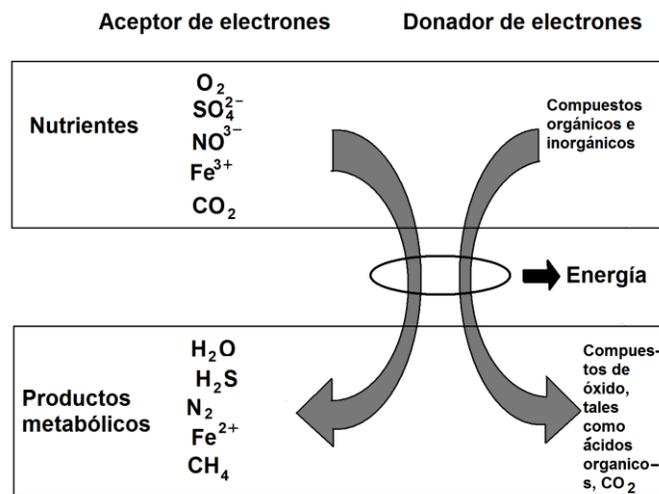


Figura 1.5. Representación esquemática del metabolismo de la energía de las bacterias.

Los donantes de electrones son variados sobre todo en lo que respecta a los compuestos orgánicos siendo éstos donantes potenciales de electrones, aunque hay bacterias en particular que solo son capaces de utilizar una gama más restringida de compuestos como es el caso de las bacterias sulfato reductoras. Al igual que los donantes de electrones, los aceptores son variados

aunque principalmente provienen de compuestos inorgánicos, también pueden ser orgánicos, por ejemplo los organismos aerobios, que utilizan el oxígeno para respirar como los humanos y los anaerobios que son organismos que no necesitan de oxígeno para desarrollarse, en cambio utilizan otros compuestos como aceptores de electrones como el nitrato (reducido a nitrito o nitrógeno), metales (hierro, manganeso), dióxido de carbono (reducido a CH_4 por bacterias metanogénicas), y una amplia variedad de compuestos de azufre (sulfato, sulfito, tiosulfato, etc.) reducidos a sulfuro de hidrógeno. De éstas reacciones redox se crea, a través de las células bacterianas, un flujo de compuestos químicos (nutrientes) por medio del intercambio de electrones en dichas reacciones y los compuestos reducidos u oxidados que son productos finales del metabolismo los cuales son rechazados.

1.2.4. Bacteria sulfato-reductora (BSR).

Las bacterias reductoras de sulfato son los organismos más frecuentemente implicados en la corrosión bacteriana del acero en medios de aireados. Las BSR son anaerobias, obtienen su energía de compuestos orgánicos e inorgánicos. Se caracterizan por reducir el sulfato a sulfuro (figura 1.6), tienen una morfología y filogenética muy heterogénea, ya que se le ubica en dos dominios del árbol filogenético.

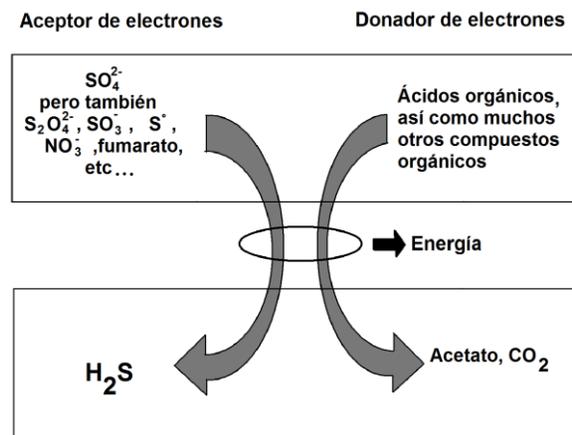


Figura 1.6. Representación esquemática del metabolismo energético de las BSR.

Utilizan como donadores de electrones a los ácidos orgánicos y como receptor de electrones al sulfato, en ausencia de compuestos de azufre utilizan el nitrato y algunos otros compuestos como el fumarato o ácido donítico los cuales pueden ser utilizados como receptores

de electrones en ausencia de sulfato. También algunos compuestos orgánicos como el lactato y acetato actúan como receptores, por lo que éstas bacterias presentan una versatilidad con más de 150 compuestos orgánicos donantes de electrones, además de poderse adaptar a cambios radicales de su entorno.

Existen dos tipos principales de *BSR*, las que oxidan por completo al donador de electrones en CO_2 y las que parcialmente lo oxidan en CO_2 y acetato, sumándose a éstas un grupo de *BSR* importante en los procesos de corrosión, las que utilizan al hidrógeno como fuente de energía, conocidas como hidrogenotróficas la cual es una especie no muy común.

1.3. Metabolismo y la corrosión.

Las consecuencias que tiene la actividad metabólica de las bacterias es la de acelerar el fenómeno de la corrosión electroquímica. Existen varios mecanismos que explican estos procesos, como la teoría de despolarización catódica y la teoría de la acidificación local, las cuales se basan en la actividad metabólica de las bacterias para poder establecer la corrosión influenciada por microorganismos (CIM).

1.3.1. Teoría de la despolarización catódica.

En 1934 Von Wolzogen Kuhr y Van der Vlugt proponen la teoría de la depolarización catódica. El hidrógeno es sintetizado de la superficie del metal por la enzima hidrogenasa de la *BSR*. De éste proceso se produce sulfuro de hidrógeno, que al combinarse con Fe^{2+} forma sulfuro de hierro (FeS), el cual se acumula sobre la superficie del metal [7].

1.3.2. Teoría de la acidificación local.

El metabolismo de las bacterias modifica el pH del medio por ciertos nutrientes que son utilizados y excretados en productos metabólicos. Los sulfuros de hierro precipitados son los que propician el proceso corrosivo del acero, junto con el H_2S generado por las *BSR*, y supone que, por la actividad metabólica de las mismas, en la interfase metal/solución ocurre un descenso del pH que acelera el proceso corrosivo de forma localizada, aunque no toda la responsabilidad se le asigna a las *BSR*, ya que otras bacterias son capaces de acidificar el medio, como la bacteria Sulfurogenes, productora de sulfuros [8].

1.3.3. Metabolismo de la hidrogenasa y la corrosión bacteriana.

La teoría de la despolarización catódica principalmente expone la utilización del hidrógeno catódico por las *BSR*. En el caso particular de las *BSR* hidrogenótrofas, el hidrógeno catódico producido por el fenómeno de corrosión aporta un suplemento de donadores de electrones al medio. Ésta fuente de energía puede ser utilizada por otro tipo de bacterias de la biopelícula, como las homoacetógenas que producen acetato a partir de hidrógeno y CO_2 . De ésta manera ellas pueden servir como donantes de electrones a otras bacterias incluyendo las *BSR*. Así, el aporte de una fuente de energía como el hidrógeno por la corrosión del acero, ocasiona un aumento en la actividad metabólica en la biopelícula, como en los productos de corrosión. A este fenómeno de auto-amplificación de corrosión por el hidrógeno se le conoce vulgarmente como microbiología influenciada por la corrosión, inverso al acrónimo tradicional conocido como corrosión influenciada por microorganismos [9].

1.4. Biopelícula.

La acumulación de materia orgánica (Material polimérico extracelular, MPE) y de microorganismos como hongos, bacterias, levaduras etc. definen un sistema conocido como biopelícula independientemente de la masa celular, naturaleza o arquitectura, y ocasionan cambios de manera directa o indirecta en los materiales. Los microorganismos adheridos a la biopelícula, pueden consumir especies químicas como dióxígeno, producir ácidos orgánicos u oxidantes, además de ser capaces de exportar ciertas enzimas para que realicen diferentes reacciones, evitan la difusión de diferentes elementos entre otros mecanismos. En consecuencia, las biopelículas generan un gradiente químico sobre la superficie de los materiales metálicos ayudando a los procesos de corrosión o limitándolos. La biopelícula puede adherirse y crecer casi en cualquier área siempre y cuando se encuentren en agua y exista una superficie. La adhesión se produce a través de una matriz altamente hidratada de polímeros orgánicos, la cual actúa como interfase entre las células bacterianas formando una estructura que permite mantener en conjunto a un gran número de comunidades multicelulares [10].

1.4.1. Arquitectura de la biopelícula.

La formación de biopelícula consiste en varias etapas, iniciando con la adhesión de células vivas en la superficie, posteriormente una multiplicación celular la cual genera una reorganización en

su estructura debido a la maduración celular, induciendo la separación parcial o total de individuos capaces de colonizar otras superficies. La cohesión de la estructura en la biopelícula es posible por la formación de un cemento intercelular o matriz interfacial, éste cemento está formado por un conjunto complejo de estructuras como resultado de desechos de la lisis celular y células muertas formando así el MPE, a su vez éstos microorganismos se reagrupan en microcolonias de aproximadamente entre 10 a 20 μm de diámetro, resultando en la multiplicación de organismos autótrofos producidos por bacterias heterótrofas. Las biopelículas son sistemas dinámicos cuya arquitectura es variable, su espesor es el producto de un equilibrio dinámico entre la acumulación de depósitos y el desprendimiento de las bacterias, además de diversos parámetros ambientales: Diferentes características superficiales como la rugosidad de la superficie influyen en la adherencia de bacterias así como en la distribución de los puntos de anclaje, alterando el crecimiento del sistema. La última fase o etapa de la biopelícula se conoce como de saturación, durante la cual se llevan a cabo desprendimiento dependiendo de las condiciones hidrodinámicas y la concentración de la biopelícula. La disponibilidad de nutrientes en el entorno determina la cantidad y calidad del material polimérico extracelular. Variables fisicoquímicas como la temperatura o la variación en la fuerza iónica influyen en el flujo polimérico ocasionando un aumento o disminución en la biopelícula. La edad y densidad de las células implica una reorganización del sistema, ya que al envejecer las estructuras se hacen más gruesas y curvas en su superficie propiciando una disminución acelerada en la resistencia a la transferencia de masa, por que el grosor de la biopelícula se vuelve heterogéneo [11].

La estructura de la biopelícula está influenciada por la producción de MPE que se encuentra disperso en éste, ocupando un volumen aproximado del 89% y formando entre el 70 y 98% de la masa. El aumento progresivo de la biopelícula crea una estratificación con respecto a las actividades metabólicas de los microorganismos específicamente en su respiración, presentando una menor producción en la parte inferior de ésta debido a la poca movilidad [12].

1.4.2. Material Polimérico Extracelular.

El análisis del contenido intercelular de la biopelícula no es un proceso sencillo ya que a menudo se requiere de extraer una muestra, lo cual no se sabe que tanto puede verse alterada la estructura. Por el contrario, la observación *in situ* con métodos de microscopía, ofrecen un alcance real y sin alterar de forma significativa el sistema. La composición química del MPE es muy variable, los

exopolisacáridos representan una parte clave de la matriz. También el ADN extracelular se puede encontrar en grandes cantidades dentro de la matriz formando estructuras que contribuyen a la cohesión del MPE. En el trabajo de Tsuneda et al. (2003) [13], las proteínas y los polisacáridos conforman entre el 75 y 89% de la biopelícula.

1.4.3. Actividad asociada al MPE.

El MPE evita la deshidratación de la biopelícula, protege de agentes externos así como facilita la actividad de las enzimas extracelulares y el intercambio intercelular. Las bacterias de alta producción de MPE tienen ventaja sobre las de baja producción permitiéndoles un desarrollo más rápido sobre la parte superior en la biopelícula. En la figura 1.7 se muestra el desarrollo de una biopelícula bacteriana [14].

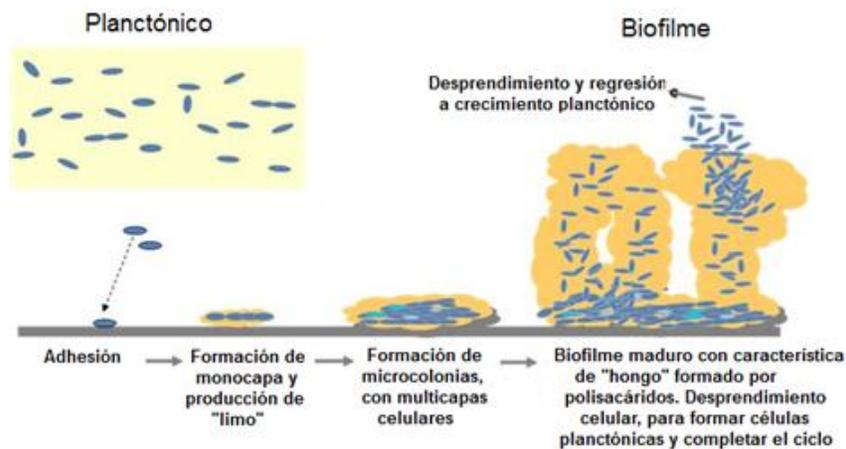


Figura 1.7. Desarrollo de biopelícula en sustrato metálico [15].

Capítulo 2.

Mecanismos del Biodeterioro de Materiales Metálicos.

2.1. Introducción.

La corrosión que ocurre en los metales se puede definir como la interacción fisicoquímica entre un metal y su medio ambiente produciendo cambios en las propiedades del metal, que conducen a un deterioro significativo de las funciones de éste, del medio ambiente o del sistema al que pertenecen. Ahora bien, cuando a este sistema se adiciona microorganismos asociados a éste fenómeno, se establece la corrosión inducida o influenciada por microorganismos (CIM), también se le conoce como biocorrosión, biodeterioro de materiales metálicos, corrosión microbiana, corrosión bacteriana, corrosión bioquímica, la cual se define como el deterioro asociado a la acción de los organismos presentes en este sistema, donde a través de sus procesos metabólicos se afecta al sustrato metálico, modifican el medio corrosivo y generan condiciones favorables para su desarrollo. Existen diferentes condiciones ambientales extremas donde se han encontrado microorganismos que pueden llevar a cabo fenómenos de biocorrosión como se muestra en la siguiente tabla 2.1 [16].

Tabla 2.1. Condiciones extremas donde se han detectado bacterias, con posibles fenómenos de biodeterioro

Parámetro	Valores extremos	Ejemplos de entornos de microorganismos
Temperatura	-12°C a +115°C	Agua salada fría Agua subterránea caliente
pH	Muy ácido (pH=0) Muy básico (pH=13)	Thiobacillus ferrooxidans Plectonema nostrocorum
Salinidad	El agua pura con soluciones saturadas	Bacterias en agua desmineralizada Bacterias en el Mar Muerto y marismas
Potencial Redox	Todo el campo de estabilidad del agua	El crecimiento de bacterias en sistemas polarizados
Presión hidrostática	De 0,01bar a 1.400bar	Las bacterias en sistemas de vacío Las bacterias barófilas de las grandes fosas marinas
Superficies	Todas las superficies e interfaces	Metales, vidrio, plásticos, hidrocarburos
Radiación	Crecimiento en fuentes radioactivas (>400 krad) Crecimiento en lámparas UV de cuarzo.	

Cualquier material en contacto con un medio acuoso no estéril se formará una biopelícula; evidentemente este fenómeno no es nuevo, se tiene más de un siglo de haberlo identificado. Considerado como el primer estudio reportado de la biocorrosión, Garret en 1891 propuso que la interacción de los productos metabólicos bacterianos sobre tuberías de plomo, ocasionaba mayor velocidad de corrosión del metal, posiblemente por el ion amonio, nitritos y nitratos formados por la acción bacteriana [17,18]. Hoy en día una gran cantidad de industrias siguen presentando este fenómeno, especialmente cuando los materiales metálicos están expuestos a ambientes naturales donde habitan diferentes especies de microorganismos.

La biocorrosión es una combinación de tres elementos: un medio acuoso, un material metálico y microorganismos (figura 2.1):

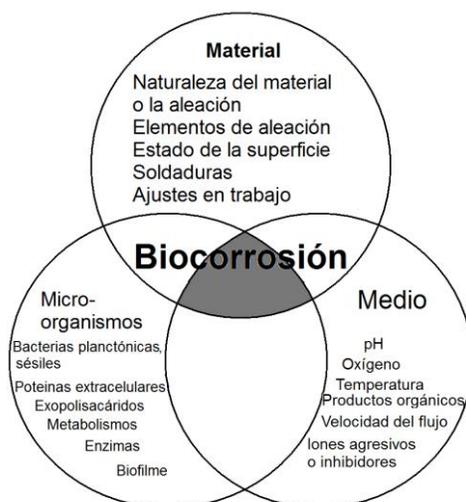
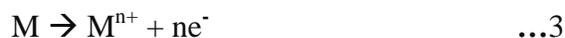


Figura 2.1. Representación esquemática del sistema de la corrosión en los fenómenos de biodeterioro de los materiales metálicos.

2.2. Naturaleza de la biocorrosión.

Es evidente que la biocorrosión no puede existir sin los microorganismos, en cambio la presencia de microorganismos no necesariamente provoca la corrosión. Los microorganismos no crean a la corrosión, pero pueden crear condiciones desfavorables para el metal. Influyen en la reacción de disolución del metal, tal como sucede en la corrosión electroquímica, como se muestra en la siguiente reacción anódica donde se lleva a cabo la oxidación parcial:



Esta reacción es un proceso de ionización metálica, donde el átomo metálico pierde electrones y queda con un exceso de cargas positivas igual a las cargas negativas que cedieron, M es un metal de valencia n , M^{n+} su forma iónica y n el número de electrones cedidos [19]. A ésta reacción anódica parcial se asocia siempre a una reacción catódica, la cual es la reducción parcial de las especies químicas presentes en la solución interfase metal/solución, llevándose a cabo ambas en forma simultánea. Las dos semireacciones parciales anódica y catódica no están en equilibrio químico, la reacción global es la que está en equilibrio químico, siendo las velocidades de reacción anódica y catódica iguales. La corrosión no sólo se caracteriza por la disolución anódica del metal, sino también por el poder oxidante del medio, es decir, por la cinética de la reacción de reducción catódica. En la figura 2.2 se muestra la gráfica de densidad de corriente/potencial de un sistema donde participan los microorganismos [11].

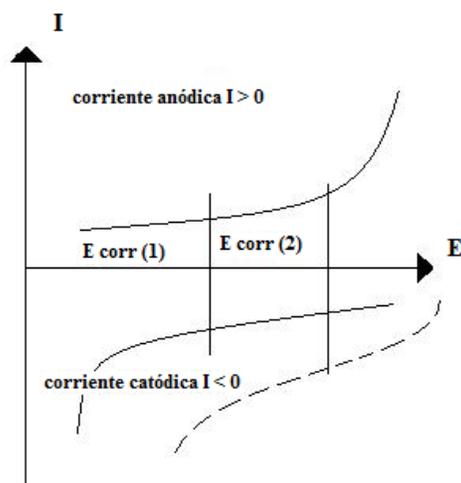


Figura 2.2. Representación de la densidad de curvas de corriente (I) frente al potencial (E): potencial de corrosión libre E_{corr} influenciado por bacterias.

El potencial de corrosión libre o potencial de equilibrio sin bacterias es representado por $E_{corr}(1)$ y corresponde a la igualdad de las corrientes anódicas y catódicas. Por otro lado la presencia de bacterias se traduce en un aumento en la cinética de reacción catódica por la influencia de un medio más oxidante (líneas punteadas), resultando en un aumento de potencial de corrosión $E_{corr}(2)$. El aumento en el potencial de corrosión puede estar asociado al aumento de la reacción catódica o por la disminución de la reacción anódica, de ahí la velocidad de corrosión. La presencia de microorganismos modifica los intercambios electroquímicos, ya sea directamente a través de enzimas intracelulares o extracelulares, o indirectamente a través de cambios en la química del medio ambiente sobre la interfase material/electrolito.

2.3. Papel específico de la biopelícula.

En las primeras investigaciones sobre el estudio de la biopelícula, se tenía un concepto en el que éstos eran estáticos y se caracterizaban por tener una zona anaerobia en la parte inferior y aerobia en la superior, prevaleciendo esta morfología varios años, para posteriormente evolucionar en una estructura dinámica y heterogénea. El carácter heterogéneo de la biopelícula muestra una distribución no uniforme de la biomasa sobre la superficie del metal, donde las microcolonias están separadas por “túneles” que garantizan la circulación interna de nutrientes y entre el medio circundante. Ésta heterogeneidad es también microbiológica y química, ya que diferentes especies de bacterias coexisten en la biopelícula creando zonas con diferentes concentraciones de elementos químicos, por ejemplo el consumo de oxígeno por parte de las bacterias aerobias genera zonas anaerobias, donde otras especies pueden proliferar. Ésta heterogeneidad en la biopelícula toma un cierto tiempo, aunque se han encontrado bacterias aisladas o agrupadas en racimos sobre la superficie de algunos materiales sin que se creen estos.

La biopelícula no solo está compuesto por agua y bacterias, sino también de sustancias orgánicas excretadas por microorganismos de diferentes especies, conocido como material polimérico extracelular (MPE) o exopolímeros extracelulares, éste material tiene la característica de funcionar como barrera interna entre la biopelícula y el medio ambiente, un caso específico son los biocidas, además de evitar la disminución de concentración de metabolitos, así como la de beneficiar la formación de celdas de concentración por metabolitos y iones metálicos. Esto quiere decir que la biopelícula ocupa un lugar específico en el fenómeno de CIM ya que sirve como interfase entre el medio y el metal, donde la interfase es heterogénea, con un funcionamiento complejo y en constante evolución, ocasionando corrosión localizada en varios materiales metálicos [11].

Los aceros de bajo carbono son aleaciones ampliamente utilizadas, por lo tanto están en contacto con diferentes medios naturales como agua de mar, ríos, suelos etc. Su comportamiento depende en gran medida por la presencia de oxígeno. En condiciones de aireación, la velocidad de corrosión generalizada es alta. Por el contrario si se tiene un sistema ausente de oxígeno, la velocidad de corrosión es menor. El efecto de las bacterias en éstos materiales metálicos depende en gran medida de las condiciones fisicoquímicas del medio corrosivo.

2.4. Medios aireados.

Muchas bacterias producen metabolitos que son corrosivos para los metales en general y para el acero en particular. Este es el caso en suelos con alto contenido de pirita (sulfuros de hierro), donde las bacterias sulfo-oxidantes tales como *Thiobacillus*, *Sulfolobus* o *Thiomicrospira* son muy agresivas en estos materiales. Estas bacterias oxidan sulfuro o azufre para producir ácido sulfúrico generando una degradación más rápida del metal en ambientes cuyo grado de acidez pueden estar cercanos a la unidad. Algunas de estas bacterias sulfooxidantes son del tipo acidofilas aportando una concentración de ácido sulfúrico cercana al 10%.

Un ejemplo clásico es la corrosión interna en tuberías de acero por la presencia de ferrobacterias aerobias (*Thiobacillus ferrooxidans*, *Sphaerilitus*, *Gallionella ferruginea*, *Leptothrix ochracea*), donde obtienen su energía de la oxidación de Fe^{2+} (iones ferrosos) a Fe^{3+} (iones ferricos).

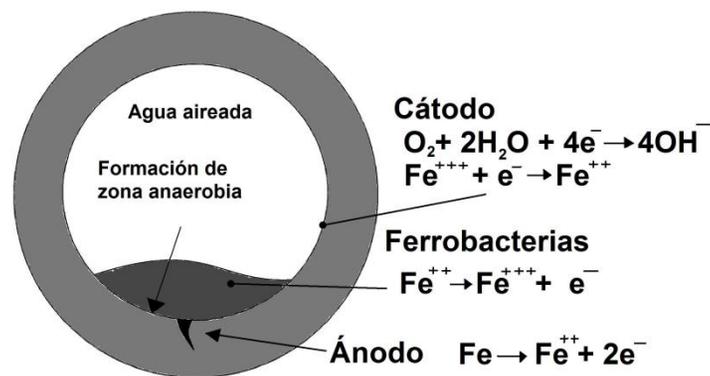


Figura 2.3. Acción de las ferrobacterias.

Existen dos mecanismos que generan un aumento en la velocidad de corrosión por ferrobacterias: (a) se genera una celda de concentración diferencial, (b) la aceleración en la reacción catódica por los iones férricos producidos por las ferrobacterias, como resultado de la reducción de los iones ferrosos sobre el borde de la biopelícula [11].

2.5. Medios deaireados.

En ausencia de oxígeno, la velocidad de corrosión en aceros de bajo carbono es baja en un medio acuoso no ácido. Esta velocidad de corrosión se limita a la reacción catódica:



Sin embargo, existen casos de corrosión localizada asociada a la presencia de BSR en medios de aireados, como en tuberías enterradas, tuberías que contienen mezclas de agua e hidrocarburos o en algunos sistemas de refrigeración, siendo éstos un número limitado de casos pero en ocasiones superiores en varios órdenes de magnitud a lo esperado, llegando la cinética del ataque localizado a milímetros o decenas de milímetros por año.

La tabla 2.2 contiene los principales mecanismos de corrosión propuestos, que explican la acción de las BSR en condiciones anaerobias.

Tabla 2.2. Principales propuestas de mecanismos de corrosión de aceros de baja aleación por bacterias anaerobias estrictas.

Nombre con mayor frecuencia en la literatura	Mecanismo
La teoría de la despolarización catódica de 1934	Consumo de hidrógeno catódica por hidrogenasa de las BSR
Despolarización anódica por la formación de sulfuro de hierro, 1952	Aumento de la reacción catódica por la formación de FeS
Mecanismo de Iverson, 1966	Producción por las BSR de fósforo volátil y corrosivo
Despolarización catódica por H ₂ S, 1974	Reacción catódica nueva: $H_2S + e^- \rightarrow HS^- + \frac{1}{2} H_2$
Corrosión galvánica Fe/ FeS, 1973	FeS es más catódica que Fe, zonas en las que corroer el acero desnudo más que en aquellos en las que está recubierto por FeS
Celdas de concentración de azufre (1980) o de tiosulfatos (1997)	Presencia en la biopelícula de especies de azufre no completamente reducidas.
Acidificación local, 1993	Regulación por las BSR del pH óptimo para su crecimiento, ácido en algunas especies.
Acción de las bacterias reductoras de tiosulfato-BTR, 1998	Las BTR conduce la presencia de tiosulfatos muy corrosivos.
Utilización directa de los electrones, 2002	Catálisis de la reacción catódica por la enzima (hidrogenasa).

La velocidad de corrosión en aceros en ausencia de oxígeno, depende del potencial de actividad en la hidrogenasa en la reacción catódica, aumentando la velocidad del fenómeno corrosivo [11].

2.6. Condiciones mixtas o facultativas.

Éstas condiciones son las más comunes en los fenómenos de biocorrosión, ya que por una parte cuando se forma la biopelícula, tiende a generar zonas anaerobias en un medio aireado o simplemente por la penetración de oxígeno en zonas de aireadas, generando lo que se conoce como celdas de aireación diferencial (figura 2.4), siendo éstas las condiciones más severas observadas en la degradación metálica.

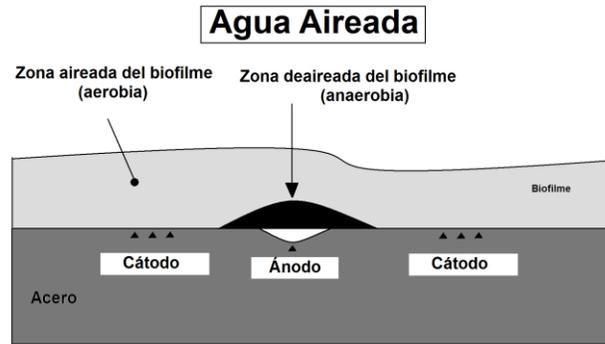


Figura 2.4. Vista esquemática del fenómeno de la diferencia de aireación en una biopelícula firmemente establecida.

2.7. Influencia de elementos en la aleación.

Los aceros de baja aleación contienen un pequeño porcentaje de cromo, níquel, cobre y molibdeno en la mayoría de los casos, ya sea para mejorar sus propiedades mecánicas o resistencia a la corrosión. Generalmente, la presencia de elementos de aleación, conduce a una disminución significativa de la velocidad de corrosión, incluso en presencia de bacterias ya sea en condiciones aerobias o anaerobias. Esto se debe al contenido tóxico en los elementos de aleación, siendo éstos dañinos para la mayoría de los microorganismos [11].

Capítulo 3.

Desarrollo Experimental.

3.1. Introducción.

En este capítulo se describen los dispositivos experimentales que aportaron fundamentos teórico-prácticos que, en conjunto, fincaron las bases del entendimiento del estudio propuesto. Por lo anterior, a continuación se menciona las técnicas y metodologías que se utilizaron en esta investigación.

3.2. Caracterización del acero.

La composición química del acero AISI 1018, se obtuvo mediante la técnica de espectroscopia de emisión por chispa, cuyos valores están dentro del intervalo que establece la American Iron and Steel Institute (AISI) en el estándar AISI/SAE, el cual reporta 0.15-0.20% de carbono, 0.6-0.9 de Mn, y 0.05% de S. En la tabla 3.1 se muestra que los valores del Carbono, Manganeso y Azufre están dentro del rango que marca la AISI, además de mantener por debajo los valores máximos de 0.04% para el Plomo y Silicio, siendo despreciables el Cromo, Molibdeno y Níquel por la baja concentración que muestran para este acero.

Tabla 3.1. Composición del acero AISI 1018, obtenida por el método de espectroscopia de emisión.

C %	Si %	Mn %	P %	S %	Cr %	Mo %	Ni %	Al %	Co %
0.189	0.147	0.713	0.004	0.02	0.060	0.051	0.073	-	-
0.183	0.155	0.881	0.001	0.014	0.072	0.051	0.078	-	0.012

En el análisis metalográfico del acero AISI 1018 se utilizó el microscopio electrónico de barrido (MEB), obteniendo la micrografía que se muestra en la figura 3.1. Cabe señalar que la muestra se preparó mediante un acabado superficial y un ataque químico con Nital 3 (3% de HNO₃ en alcohol metílico) durante un tiempo de 8s, para después enjuagarlo con agua destilada y posteriormente secarlo con aire seco y finalmente colocarlo en un desecador que lo mantuviera protegido de impurezas antes de ser evaluado mediante técnicas electroquímicas.

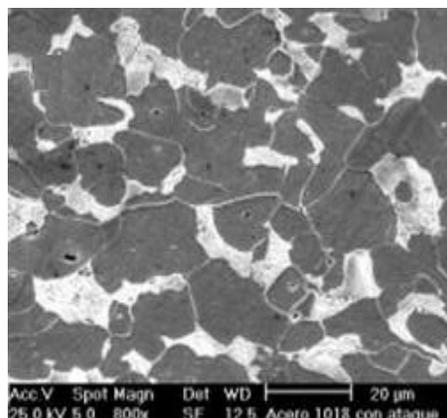


Figura 3.1. Micrografía del acero AISI 1018 atacado con nital 3 durante 8s a 800X con MEB. Fase oscura (ferrita), fase clara (perlita).

3.3. Construcción de electrodos de trabajo.

Con las dimensiones de los materiales y dispositivos disponibles para realizar las pruebas electroquímicas en el laboratorio se utilizaron probetas de acero 1018 con forma cilíndrica. Éstas fueron desbastadas superficialmente con papel abrasivo con el siguiente orden: lija No. 240, 320, 400 y 600, para posteriormente pulirlo con paño grueso utilizando alúmina de $1\mu\text{m}$ y $0.3\mu\text{m}$ de tamaño de partícula como abrasivo, para finalmente realizar un pulido a espejo con paño fino y alúmina de $0.05\mu\text{m}$. Posteriormente se enjuagó y se secó cada probeta y fueron colocadas en un desecador para su protección. A cada probeta se unió un tramo de cable de cobre y se colocó dentro de un molde de plástico, se insertó un cilindro de acrílico en el punto de unión de los electrodos, y finalmente se le aplicó resina epóxica cubriendo completamente a los electrodos como se muestra en la figura 3.2.

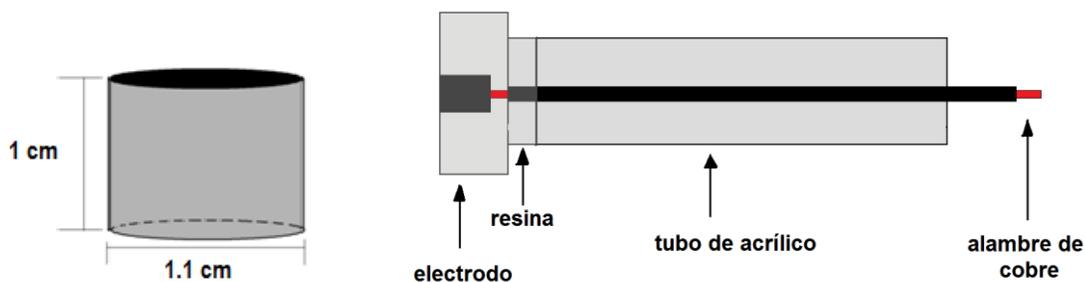


Figura 3.2. Probeta y electrodo de trabajo.

Para realizar las pruebas electroquímicas, se acopló un sistema para controlar la temperatura, el cual consta de una bomba sumergible que recircula agua corriente, así como una

resistencia variable que regula la temperatura con un intervalo de 21 a $87 \pm 2^\circ\text{C}$ y una celda electroquímica recubierta por material aislante para conservar y evitar pérdidas de calor (figura 3.3).

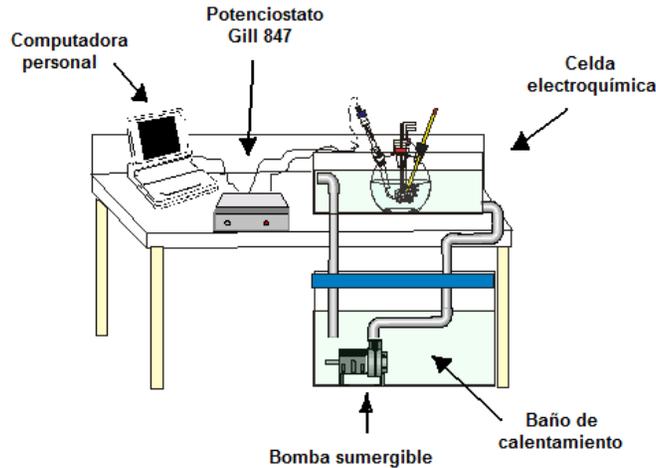


Figura 3.3. Dispositivos acoplados para control de variables.

Se utilizó un potenciostato Gill 847 ACM Instruments para realizar las pruebas electroquímicas. Y una computadora personal donde se registró las mediciones realizadas a través del potenciostato. Para la celda electroquímica se utilizó un matraz de cinco bocas (figura 3.4) constituido de un electrodo de trabajo de acero AISI 1018, un deaireador, un capilar de Luggin donde se colocó el electrodo saturado de calomelanos (ESC) y así poder medir con mayor exactitud la corriente del electrodo de trabajo y evitar la resistencia generada por el electrolito, un contraelectrodo de platino, un termómetro y como electrolitos los medios de cultivo (Posgate y NACE).

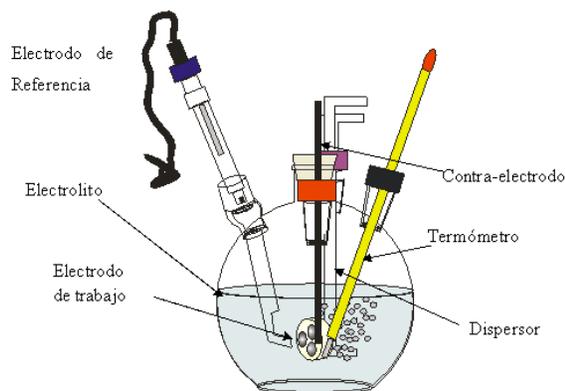


Figura 3.4. Celda electroquímica del sistema propuesto.

3.4. Curvas de crecimiento.

Antes de realizar las curvas de crecimiento fue necesario limpiar los instrumentos para evitar la alteración de las muestras por residuos e impurezas que resulten ajenos al sistema en estudio, para ello se esterilizó por calor húmedo utilizando una autoclave a 15Psi durante 15 minutos a 121 °C.

Los medios de cultivo utilizados en éstas pruebas y su composición química se muestran en la tabla 3.2. Se utilizó el conteo bacteriano para realizar las curvas de crecimiento por medio de la técnica de disolución por extinción. Para evitar la contaminación de la prueba se trabajó a una distancia no mayor a 10cm de la flama del mechero de Fisher.

Tabla 3.2. Composición química de los medios de cultivo.

Reactivos g/l	Posgate
fosfato monopotásico	0.5
cloruro de amonio	2.0
sulfato de magnesio	0.06
lactato de sodio	6.0
citrato de sodio	0.3
extracto de levadura	1.0
sulfato de hierro	0.004
Agua destilada (ml)	1000

Reactivos g/l	NACE
sulfato de sodio	3.3
cloruro de calcio	1.8
cloruro de sodio	19.5
cloruro de potasio	0.6
bicarbonato de sodio	0.16
cloruro de magnesio	8.8
Citrato de sodio	0.1
Extracto de levadura	1.0
Peptona	5.0
Agua destilada (ml)	1000

Se tomaron alícuotas de 1ml de la cepa de propagación por medio de una micropipeta, para agregarlo en dos frascos que contienen 9ml de los medios Posgate y NACE, respectivamente, para inocular el sistema. Posteriormente, se extrajo una muestra con una jeringa estéril de 1ml, donde se agregó en otro tubo de dilución. Éste procedimiento se realizó tanto para el medio Posgate como para el medio NACE, hasta alcanzar el factor de dilución que se muestra en la tabla 3.3. En ésta etapa los tubos de dilución se mantuvieron a 37 °C, donde se observó la evolución de la bacteria por medio de una etapa de adaptación (fase LAG) y una de crecimiento (fase LOG), que muestra un desarrollo de la bacteria en éstos medios propuestos.

Tabla 3.3. Factor de dilución.

Toma	T1	T2	T3	T4	T5
Disoluciones	10^1-10^6	10^1-10^6	10^1-10^6	10^1-10^6	10^1-10^6
Siembra	10^1-10^6	$10^5,-10^6, 10^7$	$10^7,-10^8, 10^9$	$10^{10},10^{11}, 10^{12}$	$10^{13},10^{14}, 10^{15}$

Para realizar el conteo, una vez que transcurrió el tiempo de incubación, se consideró la presencia de precipitado negro en el fondo del tubo. Para cuantificar ésta muestra se utilizó la siguiente ecuación, para el número más probable de microorganismos.

$$\text{NMP} = V_t \times F; \quad \text{NMP: Número más probable de microorganismos}$$

V_t : Valor de tablas para tres réplicas (NACE –I 1990)

F: Factor de dilución de la primera dilución

El número más probable de microorganismos en los dos medios de cultivo se realizó a 37 °C durante un tiempo de 21 días, y con 12×10^3 bacterias/litro en cada medio.

3.5. Curvas de crecimiento típicas.

Cuando una población crece, hay un aumento del número de células, como consecuencia de la división celular. La mayoría de los estudios que se realizan sobre el crecimiento bacteriano se llevan a cabo utilizando poblaciones de células. Debido a su pequeño tamaño, el estudio individual se dificulta. Es por esto que comúnmente, se aplica el término “crecimiento bacteriano” para referirse a los aumentos de población total y no al aumento de la masa de un organismo aislado.

Como se muestra en la figura 3.5, el crecimiento exponencial representa solamente una parte específica del ciclo de crecimiento de una población bacteriana (fase LOG o logarítmica), antes de la fase LOG se presenta un periodo inicial donde aparentemente no hay crecimiento (fase LAG o de latencia). Posterior a la fase LOG se presenta una fase estacionaria y finalmente la población declina con la fase de muerte.

La fase de latencia es un periodo de adaptación que requieren las bacterias, además de ser la etapa donde el metabolismo celular se mantiene muy activo, ya que toman el nutrimento del medio para iniciar el proceso de división, aunque temporalmente la población no aumenta. La tendencia a cesar el crecimiento que se da en la fase estacionaria se debe a varios factores, pero principalmente a la disminución de los nutrimentos en el medio y a la acumulación de sustancias tóxicas o inhibitorias producidas durante el crecimiento. Los cambios generados en el medio por

la actividad metabólica de las bacterias, son los mismos que, al prolongarse su efecto causan que las bacterias empiecen a declinar en número. Se presenta entonces, la fase de muerte durante la cual la población decrece exponencialmente y se produce un fenómeno inverso al que ocurre en la fase LOG, denominada fase de muerte exponencial [20].

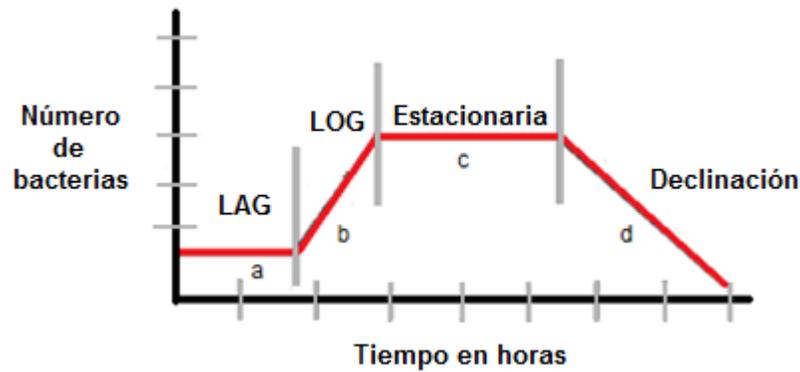


Figura 3.5. Curva típica de crecimiento bacteriano: a) fase de latencia, b) fase logarítmica, c) fase estacionaria y d) fase de muerte.

3.6. Inicio de las pruebas electroquímicas.

Para realizar la prueba de potencial a circuito abierto en presencia de BSR se tomaron lecturas durante 350 horas, en la que el metal estuvo inmerso en medio nutricional Posgate y NACE. Antes de realizar la prueba de Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIE), se esperó la estabilización del potencial a circuito abierto durante 50min, posteriormente se aplicó una perturbación senusoidal de 10mV de amplitud en un intervalo de frecuencias comprendido entre 10^3 Hz a 10^{-3} Hz, para el caso de los ensayos en ausencia de BSR. En presencia de BSR se repitió lo mismo pero en un intervalo de frecuencias comprendido entre 10^3 Hz a 10^{-2} Hz.

Capítulo 4.

Análisis de Resultados.

4.1. Introducción.

En este capítulo se muestran y se analizan los resultados de este trabajo de investigación. Inicialmente, se obtuvieron las curvas de crecimiento de la Bacteria Sulfato Reductora en los medios nutricionales Posgate y NACE en ausencia de oxígeno a 37°C en condiciones estáticas. Se realizó la medición del potencial a circuito abierto y Espectroscopia de Impedancia Electroquímica para caracterizar los medios nutricionales y evaluar el sistema en presencia de bacterias.

4.2. Curva de crecimiento.

El procedimiento para realizar las curvas de crecimiento de *la BSR* en los medios nutricionales Posgate y NACE se reporta en el inciso 3.4, del apartado anterior. En la figura 4.1, se muestran las curvas de crecimiento de la *BSR* en dos medios nutricionales (NACE y Posgate) en condiciones estáticas anaerobias a 37°C, donde se aprecia tres fases típicas del crecimiento bacteriano, Fase LAG (fase de acondicionamiento), fase LOG (crecimiento exponencial) y fase estacionaria.

En el medio NACE el tiempo de acondicionamiento es menor por la asimilación más rápida de nutrientes, de modo que se establecen en éste medio las condiciones fisicoquímicas necesarias para mantener la bacteria en un medio más eficiente comparado con el registro del medio Posgate. El periodo de las fases de crecimiento de la bacteria, así como la velocidad de crecimiento y decremento, están relacionados directamente con el medio nutricional, siendo el medio NACE en donde la *BSR* se reproduce más fácilmente y donde el decremento poblacional es menor.

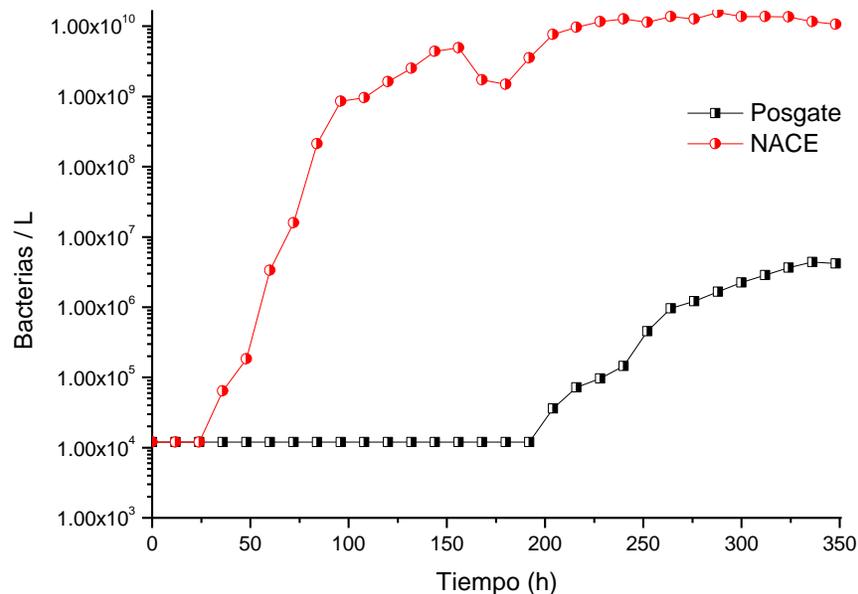


Figura 4.1. Curva de crecimiento de *BSR* en medio NACE y Posgate durante 350h a 37°C.

Las curvas de crecimiento obtenidas en los sistemas de estudio inicialmente fueron inoculadas con una cepa de 12×10^3 bacterias/L, para poder observar el efecto de los nutrientes sobre el crecimiento poblacional. El medio Posgate se utilizó para garantizar que la bacteria sobreviva por un periodo largo, mientras que en el medio NACE se utilizó para analizar las etapas del crecimiento bacteriano.

En relación a la fase LAG, el tiempo de acondicionamiento registrado en el medio NACE es menor (24h) que para Posgate (192h). En esta primera fase de adaptación o latencia el metabolismo celular se mantiene muy activo para el medio NACE, ya que las *BSR*'s toman el nutrimento del medio para iniciar el proceso de división, mientras que en Posgate tarda más en llevarse a cabo la adaptación para empezar a crecer. Esta diferencia es ocasionada por la mayor cantidad de elementos constituyentes de medio NACE así como la concentración de éstos, tal es caso de carbohidratos como el tioglicolato, peptona y extracto de levadura que satisfacen los requerimientos nutrimentales de la población, de esta manera se genera las mejores condiciones de desarrollo. En cambio, el medio Posgate sólo genera condiciones de estabilidad que ayudan a preservar la población, debido a la poca cantidad de elementos nutrimentales, así como su baja composición. La tabla 4.1 muestra los periodos de tiempo de las fases presentes en la curva de crecimiento.

Tabla 4.1. Periodo de tiempo de las fases de crecimiento de la *BSR* en distintos medios nutricionales, en condiciones anaerobias a 37°C

Medio	Fase LAG		Fase LOG			Fase estacionaria	
	Población inicial (Bacterias/L)	Periodo (h)	Modelo de crecimiento del número de bacterias/L por intervalo (h)	Población (Bacterias/L)	Población (Bacterias/L) (promedio)	Población (Bacterias/L) (promedio)	Periodo (h)
NACE	12x10 ³	24	B/L = 180.97e ^{0.1568h} (25-100)	1.15E+9	10.34E+9	1.17E+10	105
			B/L = 2E+7e ^{0.0385h} (100-160)	8.53E+9			
			B/L = 7E+6e ^{0.033h} (160-245)	21.34E+9			
Posgate	12x10 ³	192	B/L = 4.399e ^{0.0437h} (190-245)	178.67E+3	5.85E+6	6.23E+6	10
			B/L = 39.511e ^{0.0371h} (245-340)	11.53E+6			

Posteriormente, la población bacteriana entra a la fase LOG (etapa de crecimiento exponencial), en la cual la división celular latente en la fase previa se detona en esta, contabilizando 10.34E+9 bacterias/L y 5.85E+6 bacterias/L durante un tiempo de 220h y 150h en los medios NACE y Posgate respectivamente. La cantidad de bacterias/L en esta fase se obtuvo a partir del modelo o pendiente de crecimiento los cuales son una porción de tres curvas visibles de crecimiento poblacional para intervalos (25-100, 100-160, 160-245) para el caso del medio NACE y dos intervalos (190-245, 245-340) para el caso del medio Posgate. Una vez obtenida su pendiente de crecimiento por intervalo, se sustituyó en “h” el límite superior y el límite inferior del intervalo para cada caso con el cual se obtuvo la diferencia de éstas, el cual es la población para cada intervalo, mostrado en la tabla 4.1 en la segunda columna de la fase LOG, por último se promediaron los valores de crecimiento de éstas porciones de curva y así se obtuvo la población para ambos medios nutricionales. Nuevamente en esta etapa se reflejan la composición y concentración de los reactivos nutricionales utilizados, ya que la cantidad de población que se genera en el medio NACE es de aproximadamente 1E+10 bacterias/L mayor que la que se genera en el medio nutricional Posgate. En el medio NACE la actividad metabólica se llevo a cabo en 105h con una población de 1.17E+10 bacterias/L y para Posgate de 6.23E+6 bacterias/L en un periodo de 10h.

4.3. Potencial a circuito abierto del acero AISI 1018.

Los datos obtenidos del potencial a circuito abierto (Open Circuit Potential, OCP) registrados por el Electrodo Saturado de Calomel (ESC) de los sistemas de estudio se muestran la figura 4.2. En

medio NACE la BSR registra un $OCP_{inicial}$ de $-680mV$, mientras Posgate el valor es más positivo ($-625mV$). La fase de crecimiento LAG mantiene una correlación con la curva de crecimiento del medio nutricional Posgate, presentando pocas fluctuaciones de potencial, ya que este varía hasta potenciales de $-665mV$ en 200 horas. Este comportamiento también se observa para NACE donde registra una pequeña variación hasta $-682mV$ en 24 horas, esta correlación es inducida por algunas reacciones químicas que se llevan a cabo en el sustrato metálico. En la fase LOG, se detonan las reacciones químicas sobre el sustrato metálico, generando para ambos medios nutricionales fluctuaciones de potencial muy pronunciadas. En ésta fase, Posgate tiene un conteo bacteriano promedio de $5.85E+6$ bacterias/L, cuyo intervalo de potencial es de $-665mV$ a $-720mV$, en un periodo de 150 horas. Para NACE el conteo bacteriano promedio es de $10.34E+9$ bacterias/L, en un periodo de 220 horas en un intervalo de potencial muy marcado que inicia en $-680mV$ y termina en $-825mV$. Por último, en la fase estacionaria, donde la tasa de crecimiento es igual a la tasa de muerte celular la curva de crecimiento permanece prácticamente constante, este comportamiento se ve reflejado en menores fluctuaciones de OCP, con $-725mV$ para el medio nutricional Posgate en un intervalo de 340-350 horas y una población de $6.23E+6$ bacterias/L, y un OCP para NACE que fluctúa de $-825mV$ a $-845mV$ para un periodo de 105h con una población de $1.17E+10$ bacterias/L.

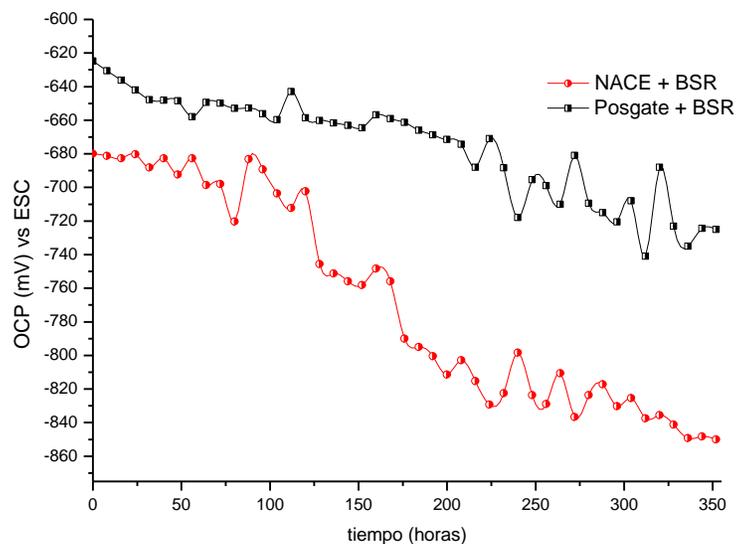


Figura 4.2. Variación con el tiempo del Potencial a circuito abierto del acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional Posgate y NACE a $37^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$.

4.4. (EIE) de los sistemas en ausencia de BSR.

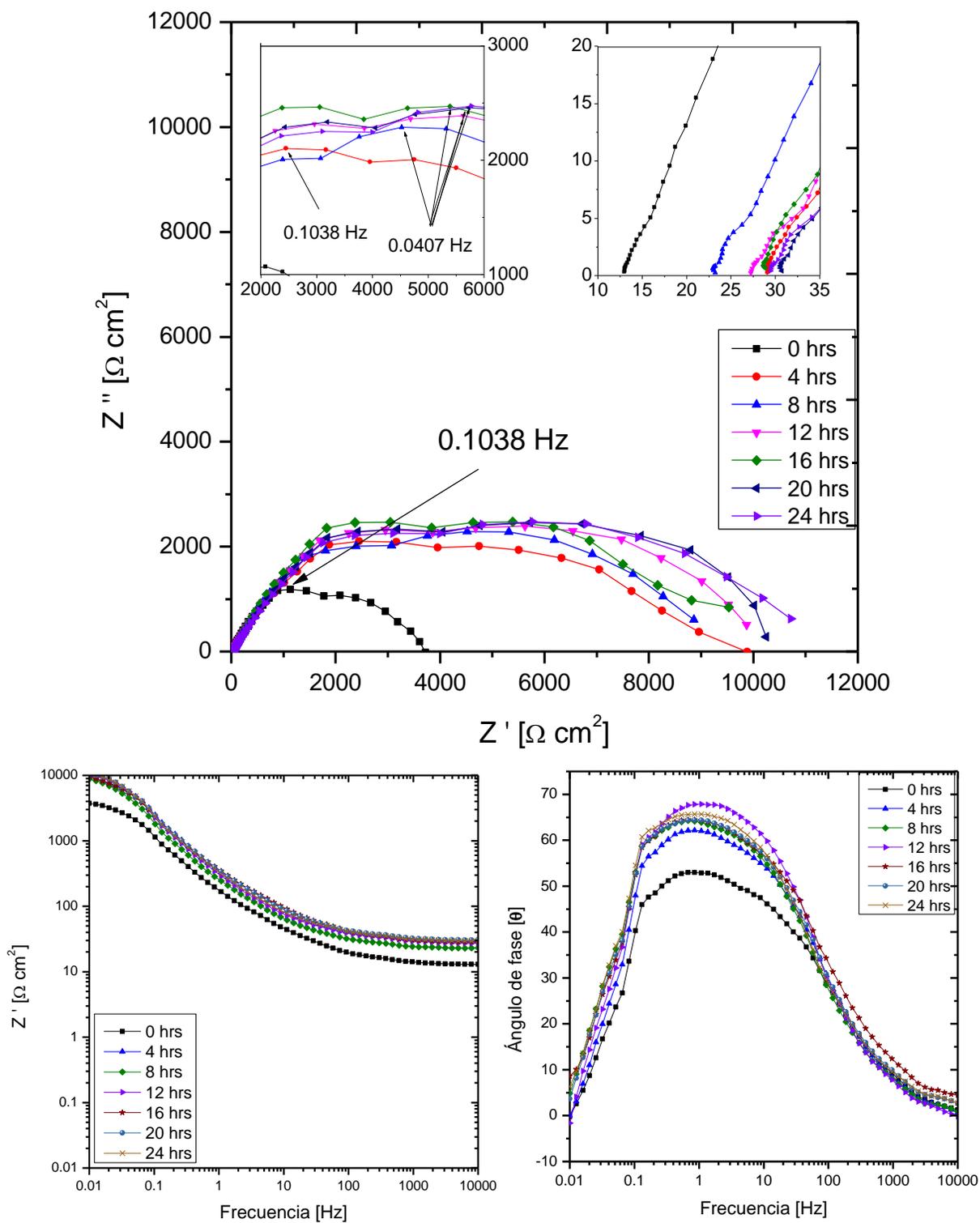


Figura 4.3. Diagrama de Nyquist y Bode para el acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional Posgate en ausencia de *BSR* a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas.

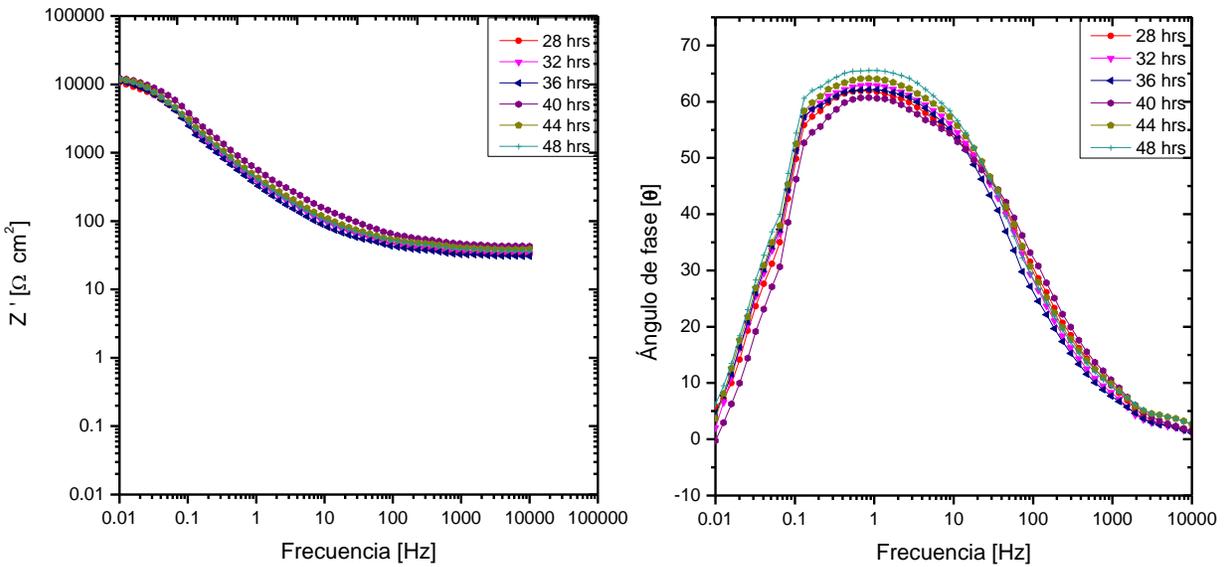
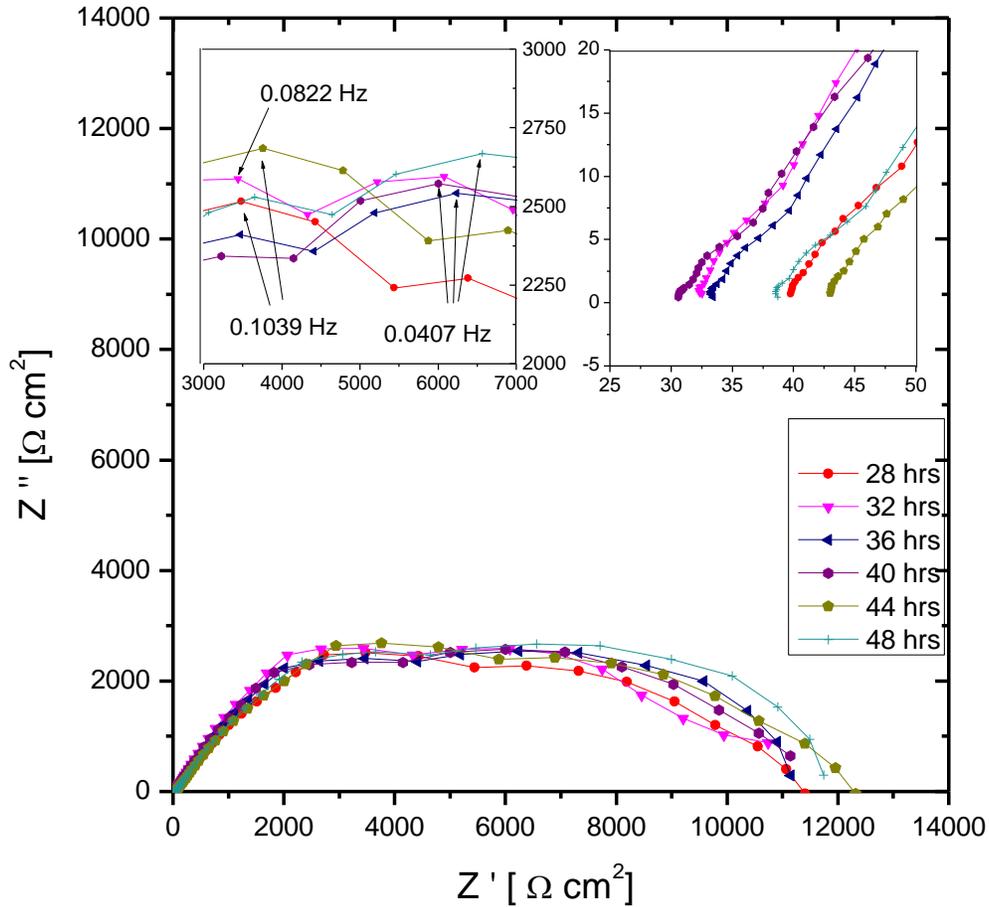


Figura 4.4. Diagrama de Nyquist y Bode para el acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional Posgate en ausencia de *BSR* a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas.

En los diagramas de Nyquist de las figuras 4.3 y 4.4 de las pruebas realizadas en ausencia de *BSR* del medio Posgate para los tiempos de inmersión de 24 y 48 horas se observa la generación de semicírculos, cuyas impedancias prácticamente no se modifican en función del tiempo, excepto el ensayo a 0 horas el cual presenta una baja resistencia a la transferencia de carga ocasionado por inestabilidad en el sistema. La velocidad de corrosión obtenida mantiene una ligera disminución en función del tiempo, esto sugiere la formación de una película porosa de productos de corrosión. En este mismo diagrama pero a altas frecuencias muestra la variación de la resistencia del electrolito en un intervalo de 12.5 a 42.5 Ωcm^2 , este desplazamiento es ocasionado por la variación en la concentración de diferentes especies iónicas, las cuales modifican el pH del medio Posgate aunque en menor magnitud.

Tabla 4.2. Velocidades de corrosión, R_{tc} e I_{corr} obtenidas por EIE del acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional Posgate en ausencia de *BSR* a $37^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.

tiempo de exposición (horas)	$R_{tc} = R_p$ (ohms $\cdot\text{cm}^2$)	$I_{corr} \times 10^{-6}$ (A/cm^2)	V_{corr} (mpy)	V_{corr} (mmy)
0	3800	6.84	3.1	0.079
4	9000	2.88	1.3	0.033
8	9300	2.79	1.2	0.032
12	10000	2.6	1.1	0.030
16	9200	2.82	1.3	0.032
20	10200	2.54	1.1	0.029
24	11000	2.36	1.0	0.027
28	11400	2.28	1.0	0.026
32	10500	2.47	1.1	0.028
36	11150	2.33	1.0	0.027
40	11850	2.19	1.0	0.025
44	12300	2.11	0.9	0.024
48	11900	2.18	1.0	0.025

Los espectros generados en el diagrama de Bode no tuvieron un cambio significativo, prácticamente no cambia la morfología de la curva, esto sugiere el modelo de una sola constante de tiempo, el ligero defasamiento que se presenta a medianas frecuencias puede tener origen en

procesos difusivos de iones metálicos de las semi-películas porosas presentes sobre el sustrato metálico, como se presenta en el trabajo de Mansfeld, (2007) [21].

La resistencia a la transferencia de carga del metal aumenta ligeramente a partir de 4 horas de inmersión, de 9000-11900 ohms•cm². Realizando el mismo procedimiento de conversiones que en el medio NACE en presencia de *BSR*, se obtuvo la i_{corr} , la cual disminuye ligeramente en función del tiempo (tabla 4.2), por lo tanto resulta ser inversamente proporcional con respecto a la resistencia por transferencia de carga, cumpliéndose la relación: $R=1/C$, donde “R” es la resistividad del material y “C” la conductividad o la capacidad que tiene el material para facilitar el flujo de carga. Aunque la velocidad de corrosión tiende a disminuir debido a películas de tipo porosas. Éstas películas se deterioran en iones metálicos para formar nuevas capas o semi-películas en la misma zona del sustrato metálico, ésta retroalimentación principalmente es inducida por fenómenos difusivos los cuales continuamente están ocupando estos espacios (poros) en las películas de óxido metálico, prevaleciendo cíclicamente éste fenómeno, de manera que la velocidad de corrosión permanece prácticamente constante a partir de las 4 horas de inmersión como se muestra en la gráfica de la figura 4.5.

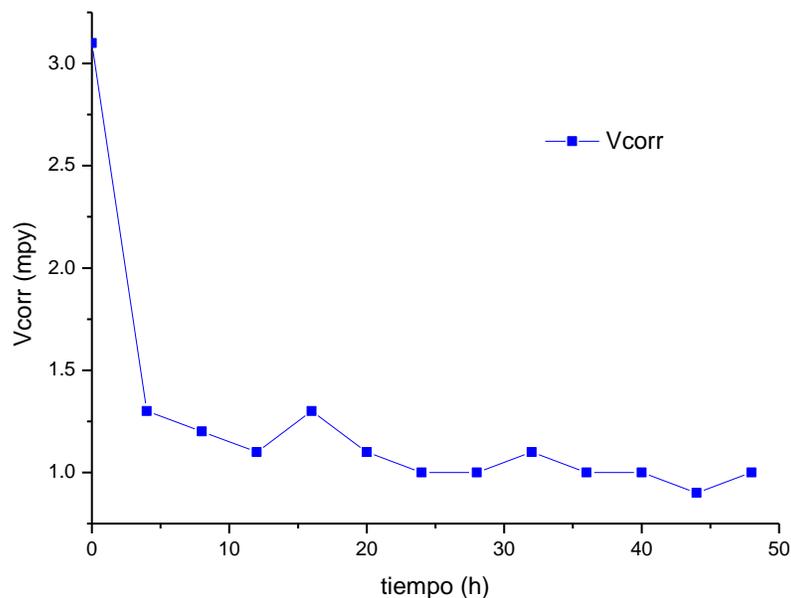


Figura 4.5. Velocidades de corrosión en mpy obtenidas por EIE del acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional Posgate en ausencia de *BSR* a 37°C ±2°C.

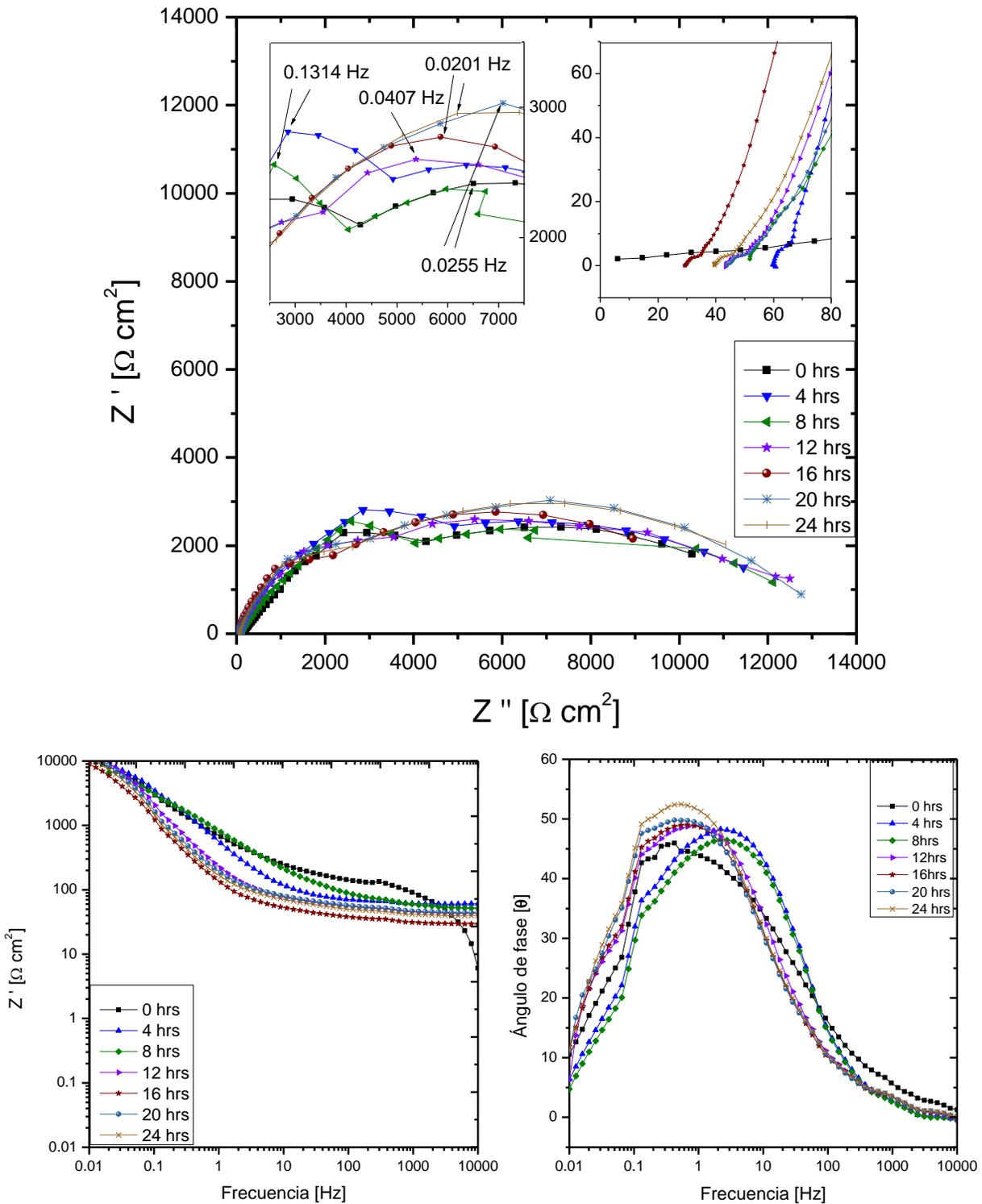


Figura 4.6. Diagrama de Nyquist y Bode para el acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional NACE en ausencia de BSR a 37°C ± 2°C durante 24 horas.

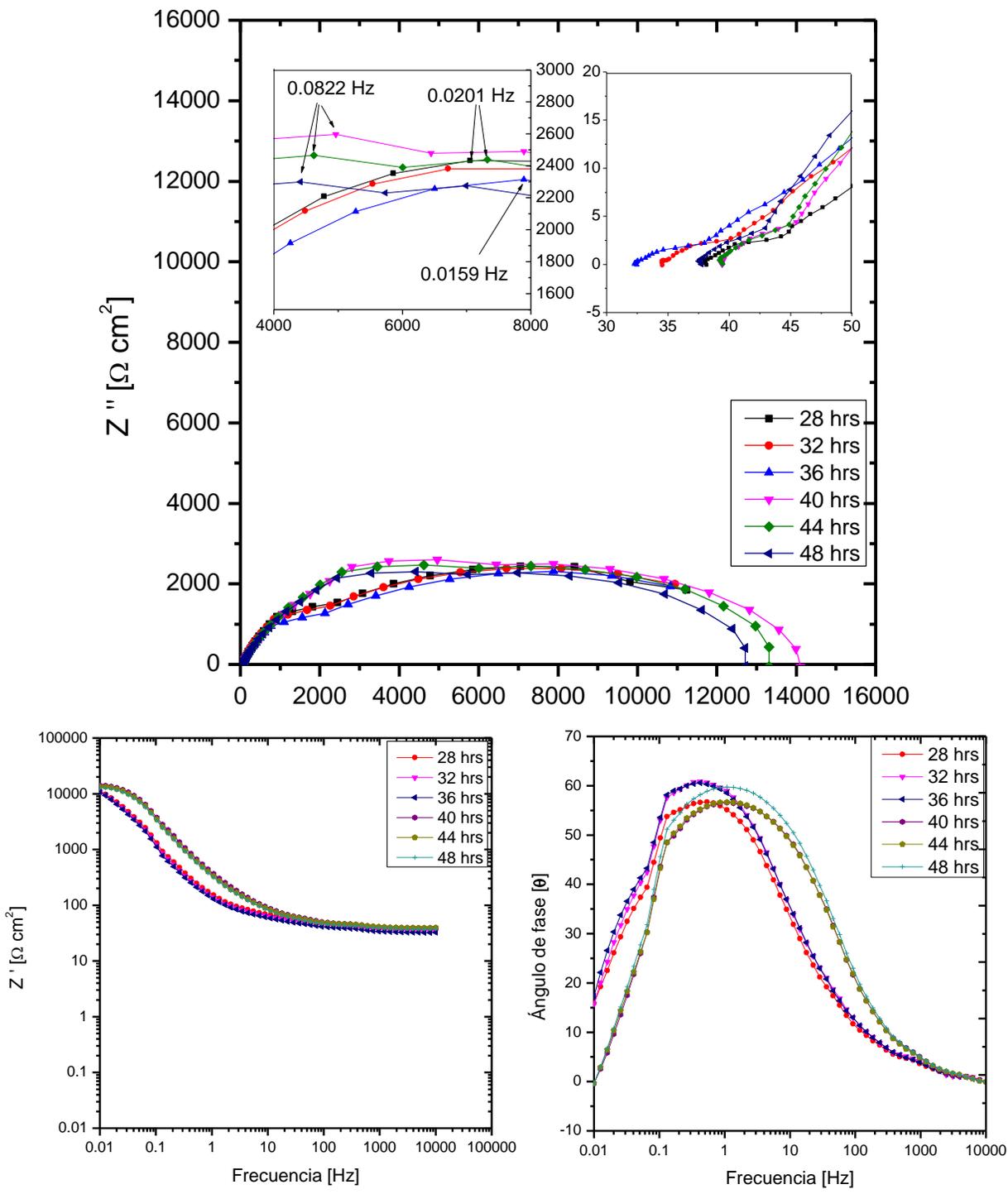


Figura 4.7. Diagrama de Nyquist y Bode para el acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional NACE en ausencia de *BSR* a $37^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ durante 48 horas.

Las curvas generadas en el diagrama de Nyquist así como en los diagramas de Bode en ausencia de *BSR* inmerso en medio NACE, tienen similitud en cuanto a magnitud y morfología con respecto a las curvas generadas en el medio Posgate. En la figura 4.6 y su complemento 4.7, se aprecia que los rangos de defasamiento de las curvas son ligeramente más marcados a medianas frecuencias (1Hz-100Hz), esto se puede observar en el diagrama de Bode (θ), así como en Bode (Z'). En ambos los procesos difusivos de transporte de iones Fe^{2+} de la interfase metal se realizan de manera más rápida. Lo que ocurre es una rápida ocupación de espacios porosos de la película de óxidos así como de transporte de masa de la capa al medio, lo cual genera una velocidad de corrosión prácticamente constante como se observa en la tabla 4.3. El proceso muestra que entre más rápido sea el transporte de iones o proceso de difusión a través de las semi-películas, menores fluctuaciones se tienen en V_{corr} , el cual registra para éste medio un intervalo de 0.8 a 1.0 mpy.

Tabla 4.3. Velocidades de corrosión, R_{tc} e I_{corr} obtenidas por EIE del acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional NACE en ausencia de *BSR* a $37^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$.

tiempo de exposición (horas)	$R_{tc} = R_p$ (ohms \cdot cm 2)	$I_{corr} \times 10^{-6}$ (A/cm 2)	V_{corr} (mpy)	V_{corr} (mmy)
0	12500	2.08	0.9	0.024
4	13000	2.0	0.9	0.023
8	13100	1.98	0.9	0.023
12	12300	2.11	0.9	0.024
16	11000	2.36	1.0	0.027
20	13300	1.95	0.9	0.022
24	13350	1.94	0.8	0.022
28	12000	2.16	0.9	0.025
32	14000	1.85	0.8	0.021
36	14200	1.83	0.8	0.021
40	14050	1.85	0.8	0.021
44	13250	1.96	0.9	0.022
48	12800	2.03	0.9	0.023

La estabilidad que presenta el sistema no se puede interpretar como una protección o pasivación de la superficie metálica ya que la V_{corr} no disminuye con respecto al tiempo de

inmersión sino que solo se mantiene estable. Este comportamiento se obtiene cuando existe adsorción de especies químicas en la interfase película-electrolito, el cual acelera el proceso de difusión, a su vez esta adsorción es promovida por la diferencia en composición química que presenta las semi-película formada electroquímicamente.

La resistencia a la transferencia de carga para cada tiempo de inmersión obtenida en el diagrama de Nyquist es ligeramente mayor para este medio electrolítico, el cual registra un intervalo de 11000 a 14200 ohms•cm², debido a un menor flujo de carga sobre el sustrato metálico como se muestra en la tabla 4.3, por lo tanto las velocidades de corrosión obtenidas en el medio NACE (figura 4.8), son ligeramente menores con respecto a las obtenidas en el medio Posgate.

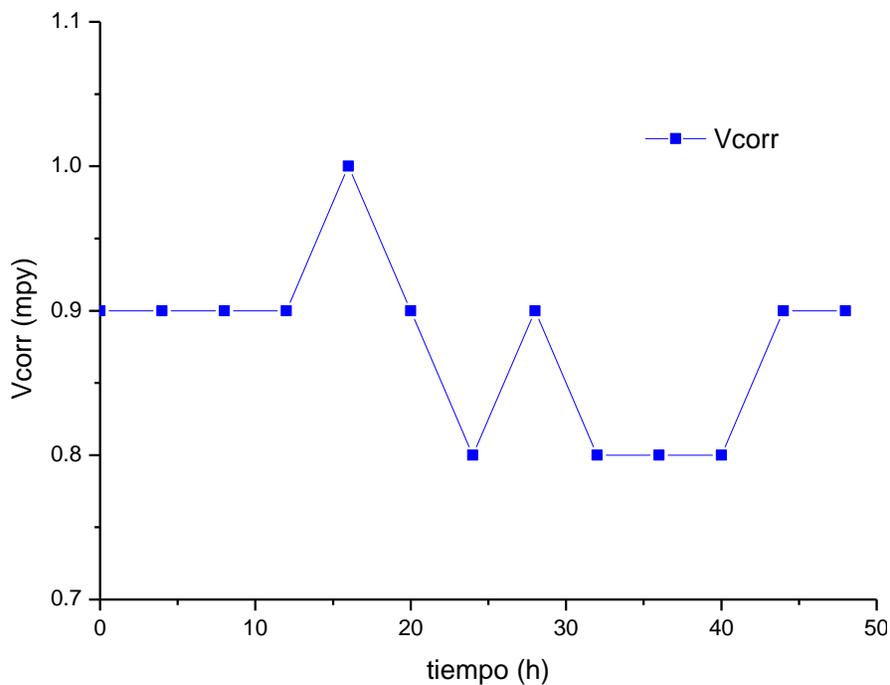


Figura 4.8. Velocidades de corrosión en mpy obtenidas por EIE del acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional NACE en ausencia de BSR a 37°C ±2°C.

4.5. (EIE) de los sistemas en presencia de BSR.

En la figura 4.9 se muestra el diagrama de Nyquist (Z' vs Z'') del acero AISI 1018 inmerso en el medio nutricional NACE en presencia de *BSR*. Al inicio del ensayo se genera un semicírculo, que corresponde a un sistema Resistivo Capacitivo (RC), registrando a altas frecuencias una variación en la resistencia del electrolito de 3 ohms al inicio y 6 ohms al final, induciendo las *BSR* en este medio una mayor conductividad. Los semicírculos obtenidos disminuyen en diámetro en función del tiempo, a su vez, a partir de las 168 horas, se presentan semicírculos planos que representan una modificación en el sustrato metálico a partir del MPE excretado por las bacterias, el cual sugiere la presencia de la biopelícula. Si se extrapolan éstos semicírculos hasta el eje de las abscisas se obtiene la Resistencia a la transferencia de carga (R_{tc}). Ejemplo de ello es la obtención de $1300 \Omega\text{cm}^2$ para 168 horas y $830 \Omega\text{cm}^2$ para 350 horas. La disminución de R_{tc} en función del tiempo indica un aumento en la velocidad de corrosión (tabla 4.4). En los diagramas de Bode las frecuencias altas corresponden a la magnitud de la resistencia del electrolito así como la doble capa electroquímica, en el cual se observa un desfaseamiento de las curvas con respecto al tiempo de inmersión, esto es por la modificación en la composición química y por la diversidad de compuestos químicos agresivos generados al reaccionar con los metabolitos, además de otros procesos que favorecen el bioensuciamiento. Entre 10-100Hz se observa oscilaciones en los puntos de la curva para el diagrama de fase, los cuales indican el inicio de diferentes procesos que modifican la estructura de la biopelícula así como la composición en los productos de corrosión, a bajas frecuencias (menores a 10Hz) se presentan procesos de difusión a través de la capa de productos de corrosión y el sustrato metálico, los picos que presenta la curva a medianas y bajas frecuencias en el diagrama de fase, los cuales son marcados para el ensayo de 350 horas se debe principalmente al deterioro y consecuente muerte de la biopelícula [21]. Para 72 horas de inmersión, el sistema no presenta oscilaciones en éste diagrama, esto puede ser al tipo de compuestos químicos que se presentan en este lapso de tiempo, el cual coincide con la fase donde se detona el crecimiento poblacional de *BSR*.

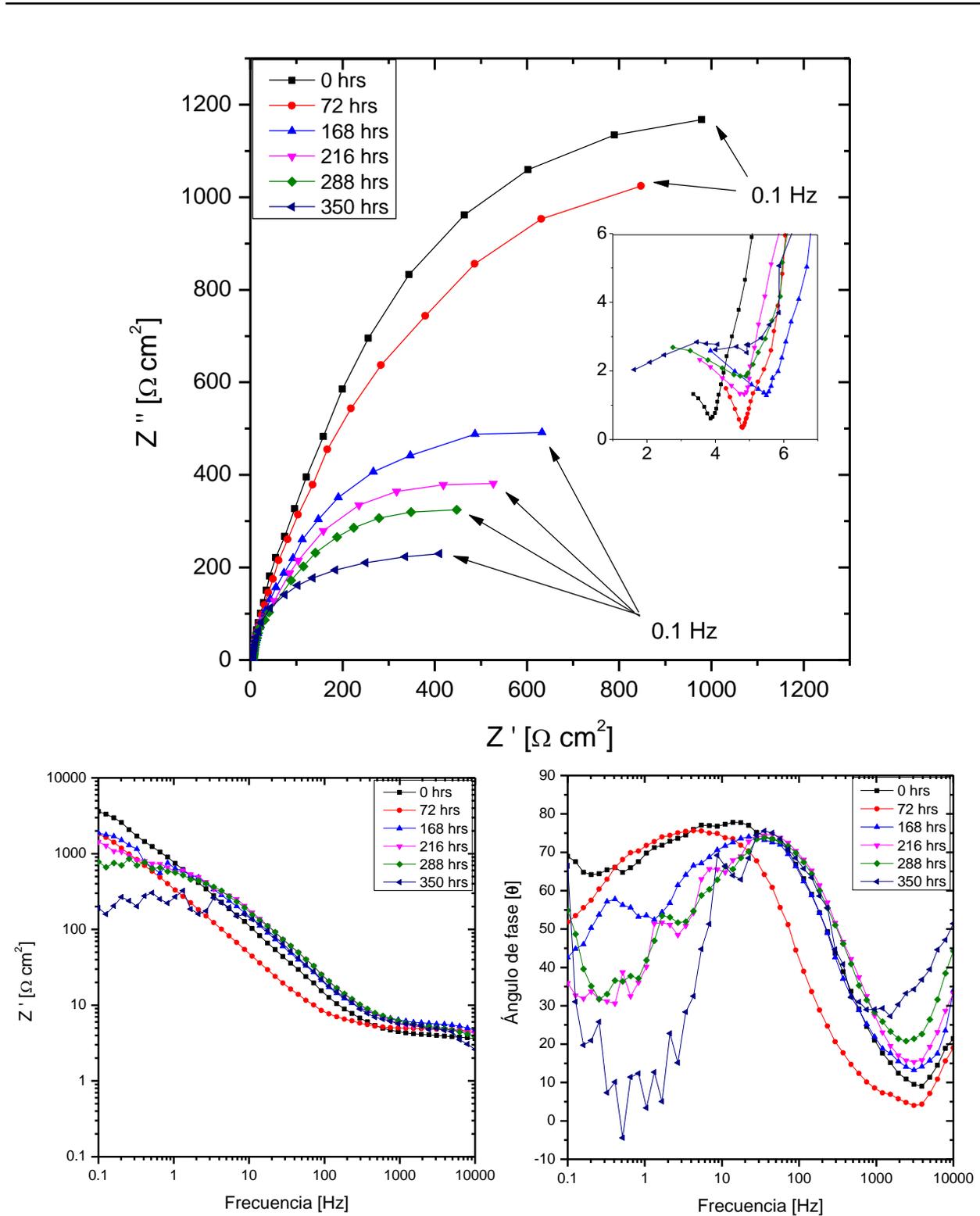


Figura 4.9. Diagrama de Nyquist y Bode para el acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional NACE en presencia de BSR a $37^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ durante 350 horas.

Se pueden identificar tres constantes de tiempo, aunque pueden variar dependiendo del análisis en la interfase, esto se puede observar en el diagrama de Bode (Z'), donde el cambio en la pendiente representa las características de elementos de tipo resistivos y capacitivos.

Tabla 4.4. Velocidades de corrosión, R_{tc} e I_{corr} obtenidas por EIE del acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional NACE en presencia de BSR a $37^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.

tiempo de exposición (horas)	$R_{tc} = R_p$ (ohms $\cdot\text{cm}^2$)	$I_{corr} \times 10^{-5}$ (A/cm^2)	V_{corr} (mpy)	V_{corr} (mmy)
0	2200	1.18	5.4	0.137
72	2000	1.30	5.9	0.150
168	1300	2.0	9.2	0.232
216	950	2.73	12.6	0.317
288	900	2.88	13.3	0.335
350	850	3.05	14.0	0.355

Para obtener la V_{corr} , primeramente se determinó la I_{corr} , a partir de la siguiente expresión:

$$V_{corr} = 1.18E-5 \frac{\text{A}}{\text{cm}^2} \left[\frac{1\text{cm}^3}{7.86\text{g}} \right] \left[55.85 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \right] \left[\frac{1\text{mol}}{2\text{eq}} \right] \left[\frac{1\text{eq}}{96500\text{As}} \right] \left[\frac{0.397\text{plg}}{1\text{cm}} \right] \left[\frac{1000\text{mp}}{1\text{plg}} \right] \left[\frac{3600\text{s}}{1\text{h}} \right] \left[\frac{24\text{h}}{1\text{dia}} \right] \left[\frac{365\text{dias}}{1\text{año}} \right]$$

$i_{corr} = B/R_p$, donde $B = 0.026\text{V}$. En el caso de 0 horas de exposición en el medio nutricional NACE se tiene una R_p de $2200\Omega\text{cm}^2$, obteniendo una I_{corr} a partir de la expresión anterior de $1.18E-5\text{A}/\text{cm}^2$. Para obtener la V_{corr} de todas las muestras se realizaron una serie de conversiones las cuales son registradas en milipulgadas por año (mpy) y en milímetros por año (mmy), como se muestra en el siguiente ejemplo:

$$V_{corr} = 5.4\text{mpy}$$

$$V_{corr} = 1.18E-5 \frac{\text{A}}{\text{cm}^2} \left[\frac{1\text{cm}^3}{7.86\text{g}} \right] \left[55.85 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \right] \left[\frac{1\text{mol}}{2\text{eq}} \right] \left[\frac{1\text{eq}}{96500\text{As}} \right] \left[\frac{10\text{mmp}}{1\text{cm}} \right] \left[\frac{3600\text{s}}{1\text{h}} \right] \left[\frac{24\text{h}}{1\text{dia}} \right] \left[\frac{365\text{dias}}{1\text{año}} \right]$$

$$V_{corr} = 0.137\text{mmy}$$

La presencia de *BSR* modifica de manera importante las interacciones superficiales entre material y electrolito, pasando a ser un sistema metal-microorganismo-biota en el cual la complejidad de interacciones que se están llevando a cabo a través del tiempo varían en orden y

magnitud, además el desarrollo de *BSR* sobre el sustrato metálico en este medio nutricional induce mayor velocidad de corrosión en comparación con el control.

Se observa en la figura 4.10, la curva de crecimiento de la *BSR* (rojo) y la V_{corr} (azul) para un tiempo de inmersión de 350 horas. La curva de crecimiento de la *BSR* induce una variación en los procesos de óxido-reducción del sustrato metálico el cual se refleja en el aumento gradual de la V_{corr} . La variación se correlaciona aun mejor en cada una de las fases de crecimiento, donde la fase de LAG o crecimiento exponencial de la *BSR*, es donde se observa un mayor aumento en la velocidad de corrosión. Para un conteo población inicial de $12\text{E}+3$ bacterias/L se tiene una velocidad de corrosión de aproximadamente 5.5mpy , terminando esta fase con un conteo poblacional promedio de $10.34\text{E}+9$ bacterias/L y una velocidad de corrosión de 13mpy , en los cuales los procesos metabólicos de las *BSR* modifican el entorno, duplicando la velocidad de corrosión con respecto a las condiciones iniciales. En la fase estacionaria se registra para 245 horas una V_{corr} de 13mpy y para 350 horas una V_{corr} de 14mpy , la velocidad de corrosión para este lapso tiende a estabilizarse, esta pequeña diferencia en la velocidad de corrosión concuerda con la variación poblacional la cual registra un conteo de $1.17\text{E}+10$ bacterias/L para el mismo intervalo.

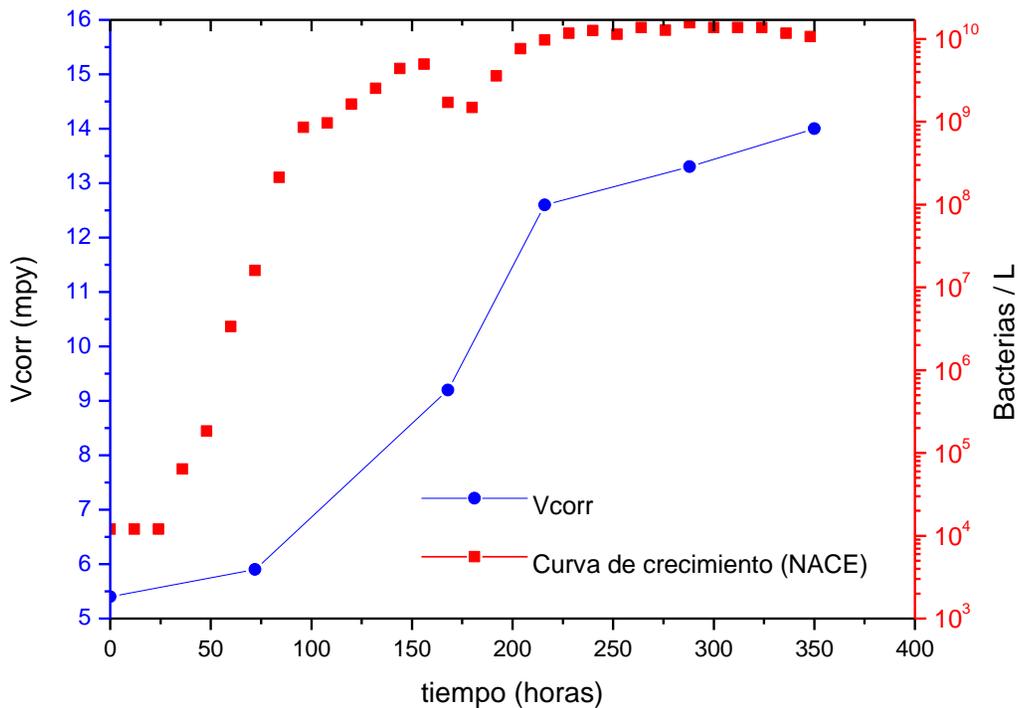


Figura 4.10. Curva de crecimiento y V_{corr} (mpy) para el acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional NACE en presencia de *BSR* a $37^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ durante 350 horas.

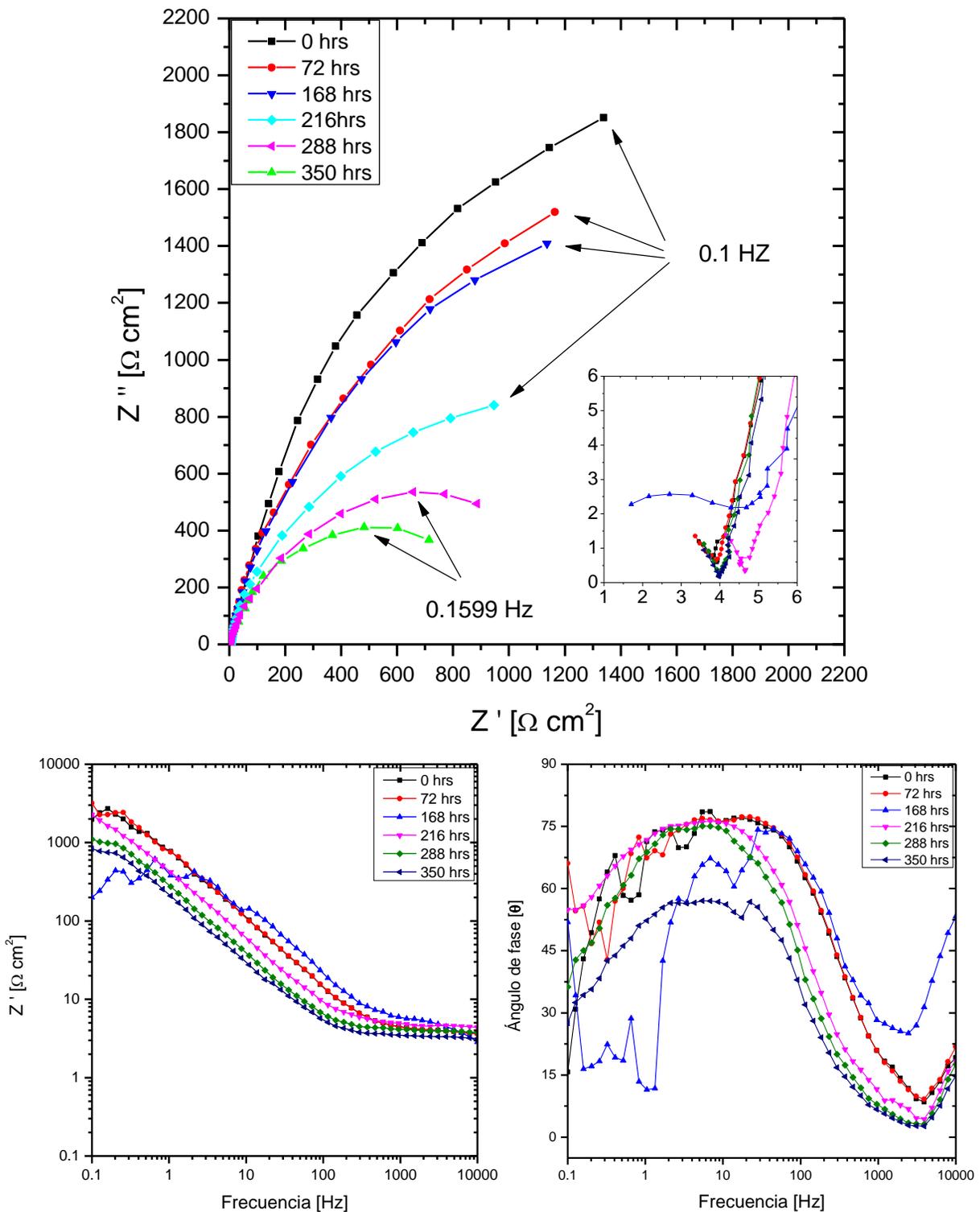


Figura 4.11. Diagrama de Nyquist y Bode para el acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional Posgate en presencia de *BSR* a 37°C ± 2°C durante 350 horas.

Las características generadas en los diagramas de Nyquist y Bode en presencia de *BSR* inmerso en medio nutricional Posgate durante 350 horas (figura 4.11), tienen cierta similitud con las generadas bajo las mismas condiciones pero en ambiente NACE, aunque existen ciertos detalles, los cuales modifican de manera sustancial el fenómeno para este medio, que se tratarán posteriormente. En el diagrama de Nyquist se observa un comportamiento del sistema Resistivo Capacitivo, donde los valores sobre impedancia real al inicio de los ensayos son muy grandes (4-5 K Ω), esto se debe a la presencia de una capa protectora sobre el sustrato metálico, por lo tanto la velocidad de corrosión presenta valores bajos, sin embargo, los valores disminuyen hasta 950 Ω al final del ensayo, lo cual sugiere que los productos de corrosión que se forman se disuelven en la fase acuosa, como el sulfato de hierro, provocando que la superficie quede sin protección generando un aumento en la velocidad de corrosión. A altas frecuencias se registra variación en la resistencia del electrolito ya que los metabolitos cambian la concentración y composición del sistema conforme aumenta el tiempo de exposición modificando el pH, ocasionando una mayor conductividad en el electrolito, el cual varía de 3 ohms al inicio y 5 ohms al final. El diagrama de Bode presenta un desfase en todos sus espectros de tiempo, asociado a las características del medio Posgate, las cuales inducen un crecimiento en las *BSR* lento en la fase LAG, de aproximadamente 200 horas, poco menos de 2/3 partes del tiempo total de inmersión, suficiente para que la biopelícula sea de forma homogénea, esto se debe a la concentración de iones en el medio, a diferencia de lo que sucede en el medio NACE donde la fase LAG es rápida, ocasionando una dispersión de iones en el medio favoreciendo la formación de tipo heterogéneo.

La figura 4.12 muestra la variación en la velocidad de corrosión en medio nutricional Posgate durante 350 horas, y la curva de crecimiento en medio Posgate en presencia de *BSR*. Durante aproximadamente 200 horas de inmersión la velocidad de corrosión permanece prácticamente constante, con un conteo de *BSR* de 12E+3 bacterias/L, esto indica que la *BSR* se encuentra en una etapa de adaptación previa a la división celular aunque su metabolismo permanece muy activo. Este lento proceso de adaptación es el que genera la formación de biopelícula homogénea sobre el sustrato metálico, registrando velocidades de corrosión de 2.6mpy a 4.7mpy. La etapa LOG o de crecimiento exponencial se visualiza también en la curva de velocidad de corrosión por una pendiente muy marcada, la cual inicia en 4.7mpy y termina en 12.6mpy. Indicando que los procesos metabólicos de la *BSR*, al igual que en la prueba para el

medio NACE, disuelven los productos de corrosión dejando desprotegido al sustrato metálico de agentes agresivos.

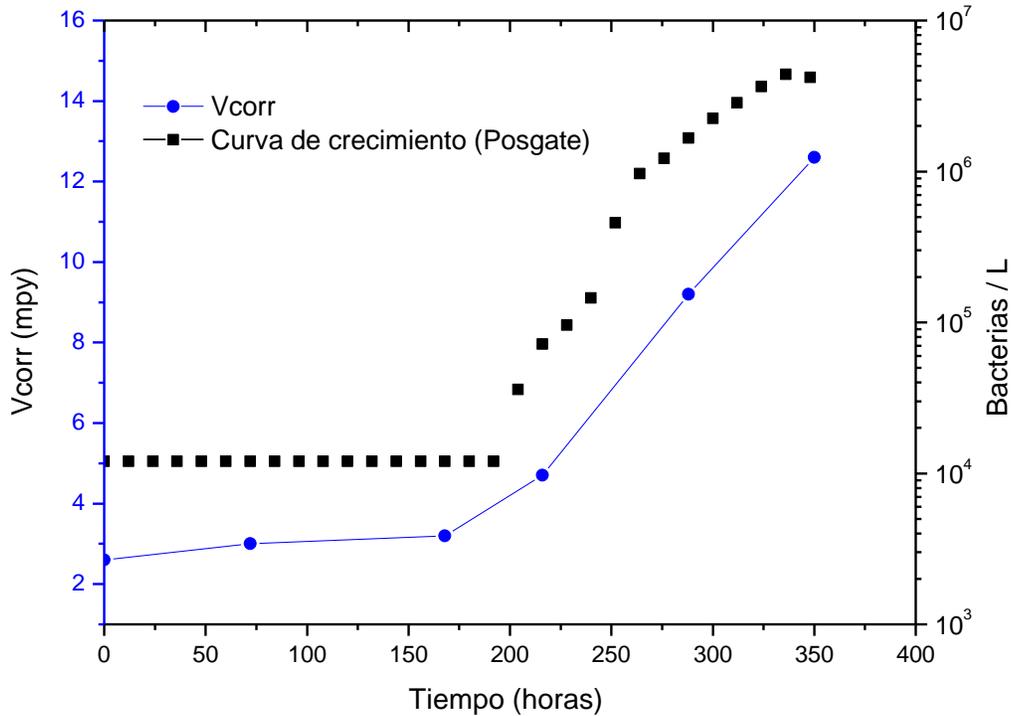


Figura 4.12. Curva de crecimiento y V_{corr} (mpy) para el acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional Posgate en presencia de BSR a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 350 horas.

La estructura de la biopelícula del tipo homogénea y compacta [22], formada por el lento proceso de crecimiento en la fase LAG del medio Posgate es la que potencializa a V_{corr} de éste, prácticamente igualando en orden y magnitud al obtenido en el medio nutricional NACE, como se muestra en las tablas 4.4 y 4.5.

Tabla 4.5. Velocidades de corrosión, R_{tc} e I_{corr} obtenidas por EIE del acero AISI 1018 inmerso en medio nutricional Posgate en presencia de BSR a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

tiempo de exposición (horas)	$R_{\text{tc}} = R_{\text{p}}$ (ohms cm^2)	$I_{\text{corr}} \times 10^{-6}$ (A/cm^2)	V_{corr} (mpy)	V_{corr} (mmy)
0	4500	5.77	2.6	0.067
72	3950	6.58	3.0	0.076
168	3650	7.12	3.2	0.082
216	2500	10.4	4.7	0.120
288	1300	20.0	9.2	0.232
350	950	27.36	12.6	0.317

Conclusiones.

En el presente estudio se utilizó el Potencial a Circuito Abierto y Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (ambas técnicas electroquímicas de bajo campo o no destructivas) con la finalidad de alterar en menor grado posible el sustrato metálico, con presencia de *BSR* y en ausencia de ellas. Los resultados obtenidos por la curva de crecimiento en conjunto con las técnicas electroquímicas se obtienen las siguientes conclusiones:

- Las mayores oscilaciones de potencial registrados por la técnica de potencial a circuito abierto, de -680mV a -820mV para el medio NACE y de -680mV a -730mV para el medio Posgate, coinciden con los rangos de (25-245) horas en NACE y de (190-240) horas para Posgate, donde se presenta el mayor crecimiento poblacional, siendo la actividad metabólica de las bacterias la que induce mayores modificaciones tanto en el sustrato metálico como en la composición y concentración del medio nutricional, sin poder predecir aún con ésta técnica electroquímica, si los procesos inhiben o inducen la corrosión.
- Las pruebas realizadas en presencia de *BSR* mediante la técnica de EIE, presentan mayor velocidad de corrosión que las realizadas en ausencia de *BSR*. Esto por la disolución de la película de sulfuros de hierro, debido a la disminución del pH interfacial como consecuencia del proceso metabólico de las bacterias, ya que ésta solo es estable a pH alcalinos, así como al desprendimiento de la biopelícula por la disminución de proteínas en el MPE, provocando que el sustrato metálico quede expuesto al medio corrosivo presente en la solución.
- La formación de biopelícula homogénea y compacta [22] induce una mayor velocidad de corrosión sobre el sustrato metálico. Siendo responsable directo el tiempo de adaptación que tiene la *BSR* sobre el entorno y el sustrato metálico.
- En ausencia de *BSR*, las velocidades de corrosión en ambos medios nutricionales permanecen prácticamente constantes, debido a procesos difusivos en la interfase del sistema [21], donde se forma una capa de óxidos de hierro de tipo porosa, sin que éste proceso llegue a modificar en gran medida el pH de las soluciones (Posgate y NACE).
- Las curvas de crecimiento y las técnicas electroquímicas empleadas son un buen complemento para estimar la CIM, teniendo una aplicación útil en la industria petroquímica donde se presenta con mayor frecuencia el deterioro de estructuras metálicas por la presencia de microorganismos.

Apéndice A.

Técnicas Electroquímicas.

A-1. Introducción.

La superficie metálica que está en contacto con algún medio, genera una interfase electroquímica donde se llevan a cabo procesos cinéticos y termodinámicos, los cuales tienen la capacidad de controlar los procesos de deterioro, por medio de la transferencia de carga y masa sobre el entorno del metal [23]. La mayor parte de los métodos electroquímicos para el estudio de la corrosión están basados en la perturbación controlada de una de las dos variables eléctricas fundamentales, potencial o corriente, y en la medida del valor que adquiere la otra variable como consecuencia de la alteración introducida en el sistema. El comportamiento de la respuesta en el tiempo depende, por una parte, de las características de la señal de perturbación y, por otra, de las características eléctricas del sistema. Haciendo uso de éstos métodos es posible estimar la velocidad de corrosión y además, extraer información adicional sobre otras características del sistema difíciles de obtener mediante otras técnicas experimentales.

Las técnicas electroquímicas de estado estacionario están basadas en la perturbación del sistema utilizando señales de corriente continua. En éstas técnicas se pueden establecer dos grupos dependiendo de la variación de la señal de los ensayos. Por un lado surgen los denominados ensayos estáticos, en los que el valor de la señal CD aplicada se mantiene constante en el tiempo. Así, si la señal aplicada es una diferencia de potencial corresponde a ensayos potencioestáticos, en los cuales se estudia la evolución de respuesta en densidad de corriente con el tiempo. El mantener una densidad de corriente fija se trabaja en modo galvanostático, cuya caracterización se realiza a través de la evolución de la respuesta en potencial del sistema. Además de los ensayos estáticos existen otras técnicas de estado estacionario, en las que el valor de la señal de corriente se va variando de forma escalonada, estudiándose la respuesta eléctrica del sistema en distintos estados de excitación. Dependiendo del tipo de señal de perturbación ya sea de potencial o de corriente se habla, respectivamente, de ensayos potenciodinámicos o galvanodinámico [24].

Las perturbaciones irreversibles que puede provocar la polarización en parámetros del sistema, son tanto mayores cuanto mayor es la amplitud de la señal, tal es el caso del método de

intersección (extrapolación de Tafel) y curvas de polarización. Menos problema causa, en éste sentido, la determinación de R_p en función de E_{corr} dada la pequeña amplitud de las señales utilizadas y, menos aún, los métodos electroquímicos no estacionarios, que permiten limitar en el tiempo la perturbación (impulsos cortos), o aplicar la señal a una velocidad tal que no dan lugar a fenómenos de transporte que modifiquen las concentraciones de reactantes o productos en la vecindad del electrodo, o de las sustancias adsorbidas, como es el caso de las señales de corriente alterna de frecuencia suficientemente elevada. Se incluyen entre los métodos no estacionarios los métodos de impulso, ruido electroquímico, técnicas de impedancia, potenciodinámicos [25]. Este último método se considera habitualmente, dentro del grupo de técnicas de estado estacionario. Esto será así en aquellos casos en los que la velocidad de polarización aplicada sea lo suficientemente lenta como para que el sistema alcance la situación de estado estacionario entre una polarización y la siguiente. Por lo tanto, también pueden considerarse a estas técnica electrodinámicas como un grupo intermedio entre las de estado estacionario y no estacionario, cuya aplicación se basa en una señal de corriente o potencial, en donde su valor se hace variar linealmente en función del tiempo, registrándose tras cada impulso su respuesta en potencial o corriente del sistema respectivamente [24].

Por tanto la elección de la técnica de estudio depende de qué sistema se quiere estudiar y qué tipo de conocimiento se pretende alcanzar: establecer el mecanismo de la reacción, ensayar un modelo o determinar la cinética de un parámetro característico en un mecanismo concreto.

A-2. Potencial a Circuito Abierto.

El potencial de circuito abierto también conocido como potencial de equilibrio, potencial de reposo, o el potencial de corrosión, es el potencial en el que no existe corriente alguna, es decir, los experimentos basados en la medición del potencial de circuito abierto son experimentos potenciométricos. En el cual se emplea un electrodo de referencia cuyo potencial es conocido y constante en el tiempo (los más utilizados son el electrodo de calomelanos o electrodo saturado de calomel, electrodo de plata/cloruro de plata (Ag/AgCl), electrodo de zinc (Zn), electrodo de cobre/sulfato de cobre (Cu/CuSO_4)), un electrodo de trabajo que está expuesto a un medio corrosivo y un potenciómetro, éste último permite medir la diferencia de potencial de la celda electroquímica dada. La variación de la diferencia de potencial en función del tiempo, es una función de las características de la celda electroquímica en estudio (material, pH, temperatura,

presión, composición química del electrolito). La técnica no predice la velocidad de corrosión del sistema en estudio.

A-3. Resistencia a la Polarización (Rp).

Existen sistemas en los que, al polarizar el electrodo hasta valores elevados, se generan daños irreversibles en los mismos. Esta limitación puede ser solventada mediante la utilización de una técnica, de la misma familia, denominada medida de la resistencia de la polarización.

En la década de los años 50, los ensayos galvanostáticos realizados por Simmons, Skold y Larssen mostraron que el grado de polarización a una determinada corriente aplicada era mayor para sistemas con menor velocidad de corrosión generalizada. Por otra parte, estos mismos autores demostraron que en un entorno del potencial de corrosión de unos pocos milivolts, la curva de polarización era aproximadamente lineal, siendo su pendiente inversamente proporcional a la velocidad de corrosión. Estas observaciones permitieron definir el parámetro denominado Resistencia de Polarización (Rp) como la pendiente en el origen de la curva de polarización lineal construida en escala E-I. Este procedimiento puede considerarse una variante del método de polarización lineal, aunque su aplicación está restringida al intervalo en el cual la dependencia entre potencial e intensidad es lineal, esto es para polarizaciones de aproximadamente $\pm 20\text{mV}$ entorno al potencial de corrosión [24].

Así mismo Bonhoeffer y Jena (1951) observaron que la pendiente de las líneas rectas que relaciona el potencial con la densidad de corriente, se podían asimilar a una resistencia de polarización. Stern (1958) demostró que la expresión de esta resistencia derivaba del hecho de que la diferencia entre dos funciones exponenciales equivale a una función lineal entre ciertos límites. Esencialmente el método que desarrolla Stern se basa en la medida de la corriente I_1-I_2 , entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo o electrodo auxiliar, correspondiente a una pequeña modificación del potencial a partir del potencial de corrosión, de modo que éste método no es destructivo. Es conveniente que la variación de potencial no sea superior a 10mV, por el contrario la curva que relaciona E / I deja de ser lineal. La intensidad de corriente de corrosión, I_{corr} , en un sistema que está bajo control de polarización por activación, viene dada por:

$$\frac{\Delta E}{\Delta I} = \frac{\beta_a \beta_c}{2,3 I_{corr} (\beta_a + \beta_c)} = \frac{B}{Rp} \quad \dots 5$$

donde β_a y β_c son las pendientes de Tafel en las curvas logarítmicas anódica y catódica respectivamente, B es una constante que sirve para pasar de la proporcionalidad a la igualdad y

presenta una relación existente entre las pendientes de Tafel. Cuando experimentalmente no es posible obtener los coeficientes de Tafel o pendientes de Tafel, se aproxima a: $B = 0.026V$ como un valor promedio de muchas pendientes. Si se designa la resistencia de polarización por R_p :

$$I_{\text{corr}} = \frac{B}{R_p}; \quad B = \frac{\beta_a \beta_c}{2,3 (\beta_a + \beta_c)} \quad \dots 6$$

Por lo tanto la velocidad de corrosión expresada en I_{corr} , por la ley de Faraday, es inversamente proporcional a la resistencia de polarización [26].

A-4. Extrapolación de Tafel.

La técnica de extrapolación de Tafel se basa en la teoría de potencial mixto, la cual establece que la reacción anódica (oxidación) como catódica (reducción) llevándose a cabo simultáneamente, de modo que la densidad de corriente total es igual a la diferencia de las densidades de corriente de las dos reacciones, esto se expresa como:

$$i = i_c - i_a \quad \dots 7$$

Cuando la corrosión es espontánea la contribución anódica y catódica son iguales pero de signo contrario lo que da una corriente neta igual a cero:

$$i_c = i_a = i_{\text{corr}} \quad \dots 8$$

Dado que no se puede medir la velocidad de corrosión de forma directa, se utiliza la ecuación de Butler-Volmer, la cual expresa la ley fundamental del sobrepotencial en régimen puro de transferencia electrónica, esta se basa en la teoría de poder obtener la velocidad de un proceso electroquímico, es decir la relación $i = f(e)$, en el caso donde la transferencia de electrones (etapa electroquímica) sea la única que controla la velocidad del proceso global. A éste régimen cinético se llama régimen puro de transferencia electrónica o régimen de activación [27].

$$I = i_0 \exp [\alpha n F \eta_a / RT - (1-\alpha) n F \eta_c / RT] \quad \dots 9$$

donde T representa la temperatura absoluta, R la constante de los gases perfectos, F la constante de Faraday, n el número de electrones intercambiados en el proceso redox, α y $(1-\alpha)$ los coeficientes de transferencia de carga, relacionados con la caída de potencial a través de la doble capa que rodea al electrodo (normalmente el valor de ambos es próximo a $1/2$), η la polarización sobrepotencial aplicada e i_0 la densidad de corriente de corrosión buscada. Para valores de sobrepotencial elevados comparados con la situación de equilibrio, esta ecuación puede ser simplificada por otra aproximación, siendo que para sobrepotenciales muy positivos (mayores a 0.100V) la contribución de la reacción catódica parcial puede ser despreciada. Siendo lo mismo

para sobrepotenciales muy negativos donde la reacción anódica se desprecia. Esta aproximación se aplica para cuando $\eta \geq 0.100V$.

En forma general la ecuación de Butler-Volmer, tanto para la reacción anódica como la catódica, despejando a η :

$$\eta = a \pm b \log i \text{ (neta)} \quad \dots 10$$

La cual es la ecuación de Tafel que corresponde a la forma general de una recta ($y=mx+b$). Por lo tanto la representación gráfica de η vs $\log i$, es una recta de pendiente m , y ordenada al origen b (figura A.1).

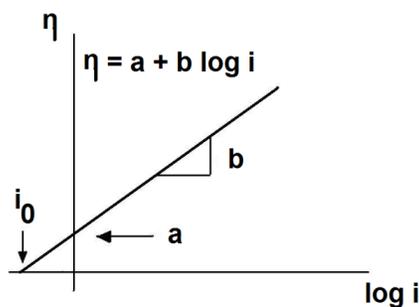


Figura A.1. Ecuación de Tafel.

Tafel halló en forma experimental que el flujo neto de corriente variaba linealmente con la magnitud de la desviación que tiene el potencial de equilibrio. Donde η es el sobrepotencial, i (neta) es la densidad de corriente neta anódica o catódica, a y b son las constantes de Tafel.

Para propósitos generales η se define como:

$$\eta = E_{\text{aplicado}} - E_{\text{equilibrio}} \quad \dots 11$$

El valor de la constante “ a ”, está relacionado con la velocidad de las reacciones anódicas y catódicas (i_0) bajo condiciones de equilibrio, cuando η es cero. Cuando la desviación de potencial de equilibrio es positiva, el proceso es anódico y el metal se oxida o disuelve. Por el contrario si el potencial toma valores más negativos que el de equilibrio el proceso es catódico, existiendo reacciones de reducción en la interfase metal/medio electrolítico [28].

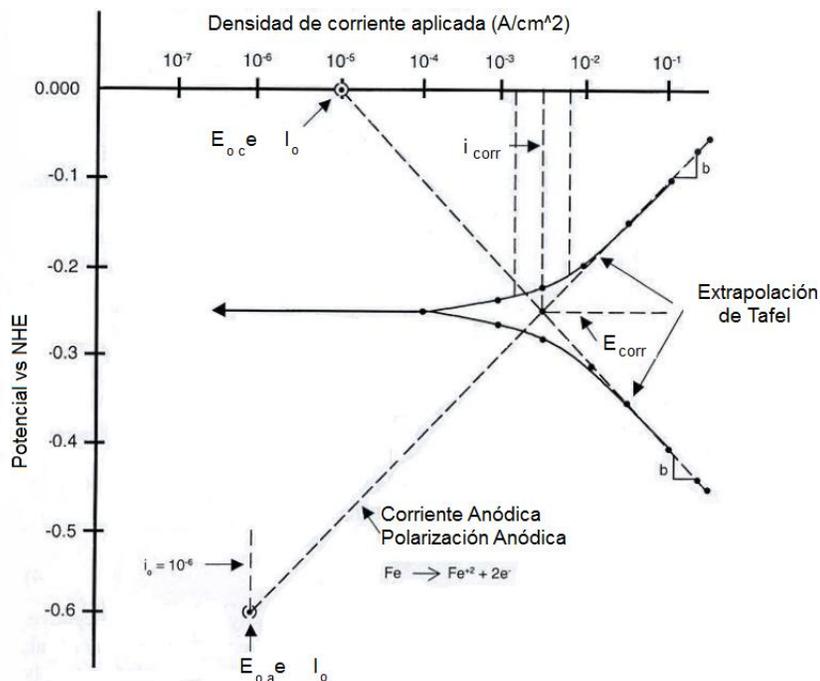


Figura A.2. Extrapolación de Tafel para predecir velocidades de corrosión.

A-5. Curvas de Polarización.

El potencial de un metal en contacto con un electrolito, además de poderse modificar en función del tiempo, cambia, de la misma forma, en función de la densidad de corriente que se le aplique. Al cambio de potencial a partir del estado de equilibrio, como resultado de flujo de corriente, se conoce como polarización, y la expresión gráfica de la función potencial/densidad de corriente se conoce como curva de polarización. Para obtener experimentalmente las curvas de polarización existen dos posibilidades: controlar la corriente y medir el potencial resultante, lo que da lugar a dos técnicas: potenciostática y galvanostática [26]. Si la probeta presenta una resistencia positiva en todo el intervalo de corrientes, la curva galvanostática será igual a la potenciostática. Sin embargo, si el sistema presenta un intervalo de resistencia negativa, tal como sucede durante la pasivación, la curva galvanostática presentará una discontinuidad en su trazado. Esta es la razón por la cual son más utilizadas las curvas de tipo potenciostáticas [29].

La curva de polarización proporciona información sobre las zonas de pasivación y activación, formación y destrucción de películas protectoras sobre metales, en diferentes electrolitos de poder oxidante variable. Y específicamente la curva de polarización anódica suministra información sobre la posibilidad en la que un material se pasive espontáneamente en

un medio determinado, además de la región de potencial en la que la especie permanece pasiva y así como la velocidad de corrosión de la zona pasiva.

En la figura A.3 se muestra la relación entre la presencia de potencial eléctrico y la densidad de la corriente para metales o aleaciones que poseen un estado pasivo. La curva de polarización anódica se puede dividir en varias regiones. Región activa o región de Tafel; existe cuando el metal se disuelve en forma activa, aumentando el potencial de corrosión y a su vez provocando un aumento en la tasa de corrosión. Hasta alcanzar el potencial de pasivación (E_{pp}) o potencial de Flade, en honor al científico F. Flade que fue el primero en observar la pasividad del hierro en ácido sulfúrico en 1911. Formándose así óxidos metálicos sobre la superficie, disminuyendo drásticamente la densidad de corrosión junto con velocidad de corrosión. El metal entra a una etapa de transición activa-pasiva, generada por la formación de una película protectora sobre la superficie del metal, situándose dentro de una segunda zona conocida como región pasiva, en ésta la densidad de corriente disminuye drásticamente, hasta un punto donde la corriente permanece casi constante (i_p). Por encima de esta zona se encuentra la región transpasiva, en el caso de que la película de óxido responsable de la pasividad sea conductora, al aumentar el potencial se produce desprendimiento de oxígeno, teniendo como resultado la destrucción de esta capa protectora [30].

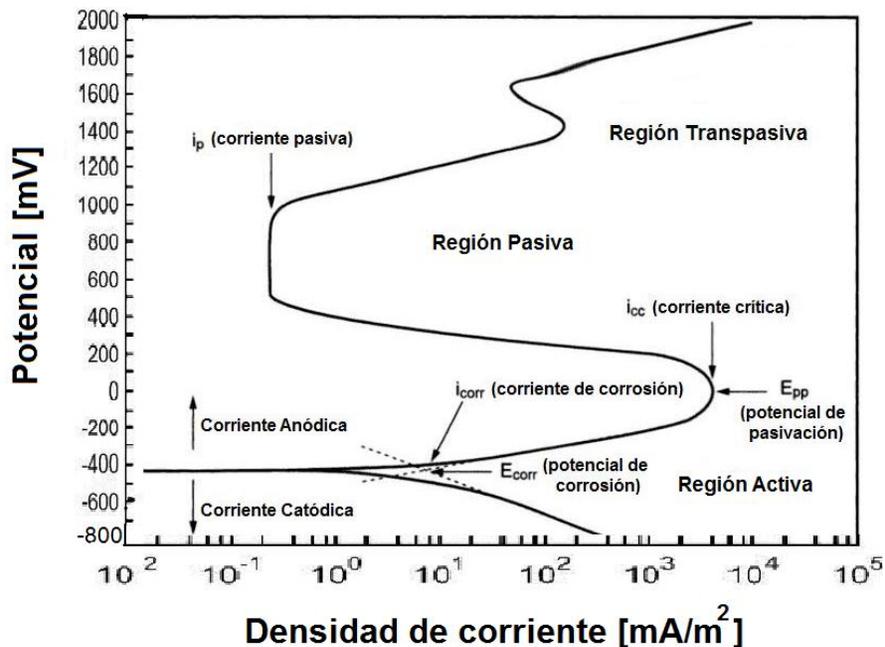


Figura A.3. Curva de polarización hipotética de un sistema pasivable.

A-6. Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIE).

Existen aproximaciones que simulan los procesos electroquímicos, los cuales analizan la respuesta de impedancia a través de modelos basados en ecuaciones cinéticas y termodinámicas adecuadas al proceso estudiado, o bien se pueden emplear modelos basados en circuitos eléctricos equivalentes construidos a partir de elementos de circuitos pasivos (resistencias, capacitores e inductores) más o menos empíricos como modelos de ajuste en las medidas de impedancia, que conectados apropiadamente pueden imitar el comportamiento de la superficie polarizada, proporcionando una representación física de los elementos electroquímicos que constituyen la superficie [31].

El principio básico de EIE es similar al de las técnicas de polarización de corriente directa, donde una corriente impresa perturba una superficie, en éste caso se aplica al sistema en estudio una perturbación eléctrica en forma de onda sinusoidal de corriente o voltaje conocidos, de pequeña amplitud a distintas frecuencias. Así su respuesta, también sinusoidal, se compara con la perturbación para deducir su impedancia con respecto a cada frecuencia. Por lo tanto la impedancia del sistema está determinada por un amplio espectro de frecuencias, cuya relación de valores de impedancia y frecuencia se denomina espectro de impedancias, de ahí el nombre de espectroscopia de impedancia electroquímica. Esta información sirve para construir un modelo electroquímico sobre la corrosión de la superficie dado que diversos procesos absorben energía eléctrica a frecuencias discretas, causando un retraso y provocando un ángulo de fase cuantificable, entre la señal de entrada y la respuesta del sistema (figura A.4).

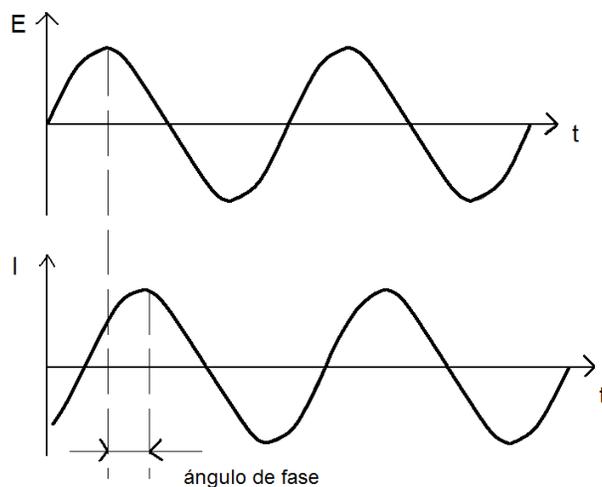


Figura A.4. Esquema de señal de entrada y respuesta en función del tiempo.

La señal de excitación generalmente expresada en función del tiempo es: $E_t = E_0 \text{sen}(\omega t)$, donde E_t es el potencial en función del tiempo “t”, E_0 es la amplitud de la señal y ω es la frecuencia radial. La relación entre ω [rad/s] y la frecuencia f [Hz] está dada por $\omega = 2\pi f$. La señal de la respuesta I_t , del potencial sinusoidal aplicado es igualmente una senoide, con la misma frecuencia pero desplazado un cierto ángulo de fase (ϕ), y una amplitud I_0 diferente, $I_t = I_0 \text{sen}(\omega t + \phi)$. Una expresión análoga a la ley de Ohm permite calcular la impedancia del sistema como:

$$Z = E_t / I_t = E_0 \text{sen}(\omega t) / I_0 \text{sen}(\omega t + \phi) = Z_0 [\text{sen}(\omega t) / \text{sen}(\omega t + \phi)] \quad \dots 12$$

De la fórmula de Euler, $e^{(j\phi)} = \cos \phi + j \text{sen} \phi$, es posible expresar la impedancia como una función compleja. El potencial de la señal de excitación puede expresarse entonces como: $E_t = E_0 e^{j\omega t}$, y la respuesta en corriente como $I_t = I_0 e^{j\omega t - \phi}$. Por lo tanto la impedancia queda como:

$$Z(\omega) = E / I = Z_0 e^{(j\phi)} = Z_0 (\cos \phi + j \text{sen} \phi) \quad \dots 13$$

La expresión $Z(\omega)$ se compone de una parte real y otra imaginaria, las cuales pueden representarse gráficamente en un plano complejo o también llamado diagrama de Nyquist, donde cada punto del gráfico corresponde a la impedancia del sistema con respecto a cada frecuencia dada. Así la impedancia puede ser simbolizada como un punto al final del vector de longitud $|Z|$, donde el ángulo de fase ϕ es el que se genera entre el vector y el eje real de las abscisas tal como se muestra en la figura A.5 [32].

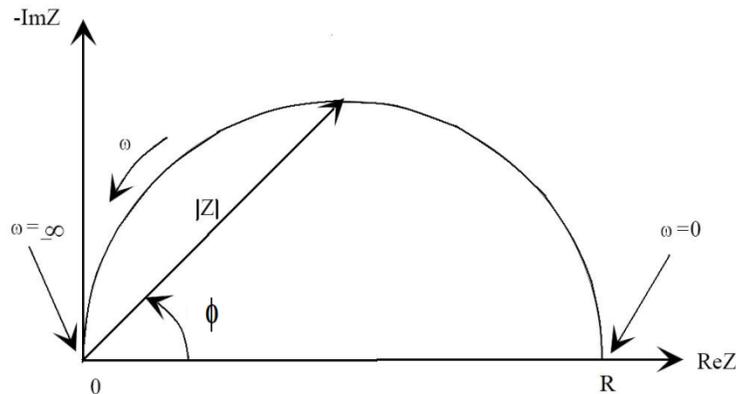


Figura A.5. Esquema del diagrama de Nyquist con vector de impedancia.

El gráfico de Nyquist proporciona información sobre la resistencia del electrolito (R_e), o resistencia que presenta una disolución iónica de una celda electroquímica en caso de que la

corrosión esté controlada por activación, R_{tc} y C_{dc} representan la interfase bajo corrosión, donde el primer término es la resistencia por transferencia de carga y el otro término, el capacitivo corresponde a la doble capa eléctrica formada en la interfase, que puede ser calculada considerando el valor de la frecuencia por el punto más elevado del semicírculo. El valor R_{tc} está directamente relacionado con la velocidad de corrosión y es indicativo de la velocidad de transferencia de carga. Es un término que tiene analogía con la R_p de la técnica de resistencia de polarización. La morfología de la curva en el gráfico de Nyquist es semejante a un semicírculo sobre el eje real, puede ser considerado como un solo proceso o constante de tiempo, el cual involucra procesos sencillos de transferencia de carga, en el caso de generarse dos o más semicírculos sobre el límite de frecuencias altas, es reflejo de procesos más complicados sobre la interfase del sistema (figura A.6) [33].

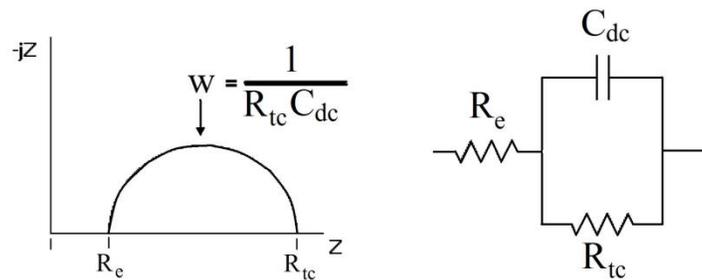


Figura A.6. Diagrama de Nyquist y su circuito equivalente.

En el caso de procesos controlados por difusión sobre el electrolito o de algún elemento que se encuentre sobre el sustrato, se debe incluir un elemento de Warburg (W), cuya impedancia describe la resistencia que ofrece el sistema por la difusión de especies a la interfase. Es un término que se manifiesta a bajas frecuencias y se representa como una línea recta a 45° como se muestra en la figura A.7.

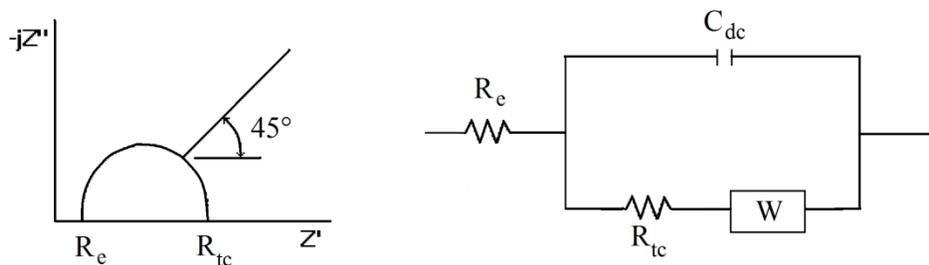


Figura A.7. Diagrama de Nyquist para un sistema controlado por difusión y su correspondiente circuito equivalente.

Una de las desventajas que presenta el diagrama de Nyquist es que no muestra claramente la correspondencia que tiene cada punto del semicírculo con respecto a cada frecuencia, esto se puede complementar con el diagrama de Bode. Este representa diferentes parámetros de la impedancia graficados contra frecuencia (figura A.8). Las gráficas más utilizadas son las de logaritmo base 10 del módulo de la impedancia ($|Z|$) contra logaritmo base 10 de la frecuencia (f), y ángulo de fase (ϕ) contra logaritmo base 10 de la frecuencia (f). Los elementos pasivos de los circuitos equivalentes, como por ejemplo el resistivo se representa por medio de una recta vertical o pendiente cero, así los elementos capacitivos tienen similitud a pendientes negativas [34].

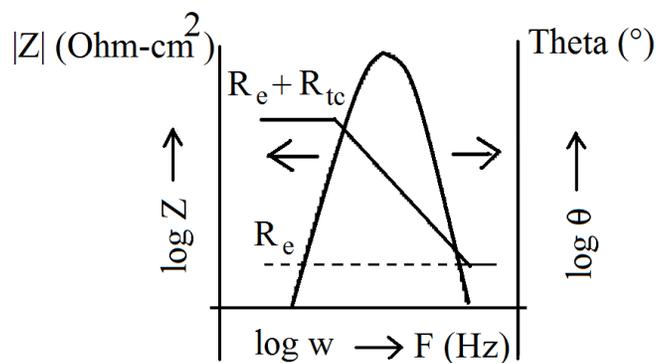


Figura A.8. Diagrama de Bode.

A-7. Ruido Electroquímico (RE).

Ésta técnica surge a finales de los años 70 y principios de los 80 como un método de ensayo no destructivo para el estudio in situ del proceso de corrosión de los metales, la cual no aplica perturbación alguna al sistema o tipo de señal externa. Dado que la corrosión es un fenómeno de superficies, de tipo electroquímico, constituido por dos semirreacciones parciales (catódica y anódica) que se llevan a cabo en puntos diferentes de la superficie del electrodo debido al carácter heterogéneo de las superficies metálicas. Esto le confiere un doble carácter determinista y aleatorio (estocástico). Se trata de un fenómeno que va a suceder en algún punto de la superficie metálica (determinista), pero puede originarse aleatoriamente en cualquier punto de la superficie del metal y en cualquier instante (doblemente aleatorio). Por lo tanto el ruido electroquímico consiste en las oscilaciones o fluctuaciones instantáneas estocásticas de potencial o corriente, y son registradas por medio de un potencióstato, puede ser de manera independiente o también para que exista una cierta correlación, simultáneamente. Estas oscilaciones o

fluctuaciones son a bajas frecuencias ($< 10\text{Hz}$) y de pequeña amplitud, que a diferencia de las señales acústicas las cuales son generadas a altas frecuencias por lo que no son de interés en este análisis [24].

El ruido electroquímico permite obtener información acerca de la cinética de reacción, es decir la velocidad de corrosión; siendo posible la identificación del tipo de corrosión ya sea: uniforme, generalizada o localizada. Además es posible obtener información acerca de los mecanismos de reacción. El ruido electroquímico en corriente es una medida de las fluctuaciones de corriente entre dos electrodos nominalmente idénticos. El ruido electroquímico en potencial es la medida de las fluctuaciones de potencial entre el electrodo de trabajo (WE) y el electrodo de referencia (RE) o entre dos electrodos nominalmente idénticos. Es común conectar el par de electrodos nominalmente idénticos a través de un amperímetro de resistencia cero y medir el potencial de este par con respecto a un electrodo de referencia o un tercer electrodo nominalmente idéntico (figura A.9). El amperímetro de resistencia cero (Zero Resistance Ammeter, ZRA) permite que los electrones puedan fluir libremente entre los electrodos de trabajo, así, la concentración de electrones tiende a ser la misma en ambos electrodos de trabajo, igualándose sus potenciales electroquímicos, y así el potencial del par es medido con respecto al tercer electrodo de referencia [35].

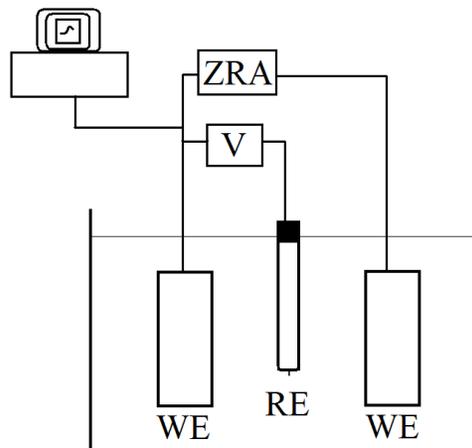


Figura A.9. Esquema de un sistema medido con la técnica de ruido electroquímico.

El método más simple de análisis y el más directo, es examinar las series de potencial/corriente-tiempo o simplemente series de tiempo, con el cual se pueden identificar detalles característicos de los tipos de corrosión particulares como por ejemplo, la detección

visual de transitorios de rompimiento y repasivación u oscilaciones asociadas a resquicios o corrosión por picaduras. Existen diferentes métodos de análisis de ruido electroquímico, los cuales ofrecen información complementaria del análisis espectral [36]:

- El dominio del tiempo considera las fluctuaciones del potencial y de la corriente como una función del tiempo. Es la forma más común en que las señales se registran y es probablemente la mejor manera de visualizar los datos.
- El dominio de la frecuencia examina las señales en términos de la potencia a diversas frecuencias, en principio, los datos pueden ser transformados desde el dominio del tiempo o real por la transformada de Fourier al dominio de la frecuencia. La oscilación de la señal en éste dominio son una función de la frecuencia, por lo tanto tendrá fase y amplitud con respecto a cada frecuencia.
- El dominio de Laplace o “s”, puede ser considerado como una extensión del dominio de la frecuencia. Se utiliza en el análisis de los circuitos eléctricos, en gran parte debido a que permite un análisis simultáneo del comportamiento en estado estacionario y transitorio. Sin embargo, no ha sido ampliamente utilizado en la interpretación de ruido electroquímico.

El ruido electroquímico puede ser caracterizado por parámetros estadísticos como son: la media, la desviación estándar, la varianza. La desviación estándar (σ), se utiliza como una medida de la amplitud de la variación de la señal en ruido:

$$R_n = \sigma_E / \sigma_I \quad \dots 14$$

donde R_n es la resistencia en ruido en ohms, σ_E y σ_I , es la desviación estándar de las señales de ruido en potencial y corriente respectivamente. Esta definición asume que el ruido en potencial surge debido a la acción de ruido en corriente a través de la impedancia interfacial. R_n se basa como en otros métodos de análisis para estudiar la corrosión, en la Ley de Ohm. Así como también se puede utilizar en el caso de corrosión generalizada, en la ecuación de Stearn-Geary para calcular la velocidad de corrosión:

$$I_{\text{corr}} = \frac{1}{R_n} \frac{\beta_a \beta_c}{2,3 (\beta_a + \beta_c)} \quad \dots 15$$

donde β_a , β_c son las constantes de Tafel anódica y catódica respectivamente.

Como se mencionó anteriormente en el análisis del dominio de la frecuencia, los datos reales de las fluctuaciones de la señal de ruido electroquímico pueden ser transformados por

medio de la transformada de Fourier al dominio de la frecuencia o también llamado método de máxima entropía, con el se puede obtener la impedancia del ruido espectral calculado como:

$$R_{sn}(f) = E_n(f) / I_n(f) \quad \dots 16$$

y

$$R_{sn}(f) = |R(f)| = R_{sn} \sqrt{R_{Re}^2 + R_{Im}^2} \quad \dots 17$$

En esta expresión, E_n y I_n son las magnitudes del potencial y la corriente en ruido para cualquier frecuencia (f) dada. R_{Re} y R_{Im} son las componentes real e imaginaria de R_{sn} [37].

Bibliografía.

- [1] Pierre R. Roberge, *Handbook of Corrosion Engineering*, McGraw-Hill (2000)
- [2] Leo Stevens, A.K. Tiller, *Microbial Corrosion – I*, Springer (1988)
- [3] Gaëlle Guillemot, *Compréhension des mécanismes à l'origine de l'adhésion de Saccharomyces cerevisiae sur acier inoxydable, Implications pour l'hygiène des surfaces en industria agroalimentaire*, [Thèse de doctorat]. Ecole doctorale SEVAB (2006)
- [4] Willem Norde, *Colloids and interfaces in life science*, CRC Press (2003)
- [5] Van Oss, C.J., *Interfacial Forces in Aqueous Media*, New York: Marcel Dekker (1994)
- [6] M. Magot, en *Biodétérioration des Matériaux*, de C. Lemaitre, N. Pébère, D. Festy ed., EDP Sciences (1998)
- [7] Gabriel Britton, *Wastewater Microbiology*, John Wiley & Sons (2011)
- [8] Ocando et al., *Efecto de los iones ferrosos, el pH y el H₂S a nivel de interfase en el mecanismo de corrosión del hierro por bacterias sulfato-reductoras*, Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia. Vol. 30, Edición Especial (2007)
- [9] B.J. Little et al., en *Corrosion 96*, NACE International, Houston, Tx, USA (1996)
- [10] I.W. Sutherland, *The biofilm matrix – an immobilized but dynamic microbial environments*, Trends Microbiol., 9 (2001)
- [11] F. Fritz-Feugeas, A. Cornet, and B. Tribollet, *Biodétérioration des matériaux. Action des micro-organismes, de l'échelle nanométrique à l'échelle macroscopique*, Ellipses ed., collection Technosup (2008).
- [12] A. Jahn, P.H. Nielsen, *Cell biomass and exopolymer composition in sewer biofilms*. Wat. Sci. Technol., 37,1 (1998)
- [13] Tsuneda S, Nagano T, Hoshino T, Ejiri Y, Noda N e Hirata, *Characterization of nitrifying granules produced in an aerobic upflow fluidized bed reactor*, Water Res. 37: 4965-63 (2003)
- [14] J.B. Xavier, K.R. Foster., *Cooperation and conflict in microbial biofilms*. PNAS, 104, 3 (2007)

-
- [15] J.W. Costerton, Z. Lewandowski, D.E. Caldwell, D.R. Korber, H.M. Lappin-Scott, *Microbial Biofilms*, Annu. Rev. Microbiol (1995)
- [16] B. Normand, N. Pébère, C. Richard, M. Wery, Collectif, *Prévention et lutte contre la corrosion: Une approche scientifique et technique*. PPUR presses polytechniques (2004)
- [17] Christine C. Gaylarde, Hector A. Videla, *Bioextraction and Biodeterioration of Metals*, Cambridge University Press (1995)
- [18] Larry L. Barton, W. Allan Hamilton, *Sulphate-Reducing Bacteria: Environmental and Engineered Systems*, Cambridge University Press (2007)
- [19] Javier Ávila, Joan Genescá, *Más allá de la herrumbre I*, La ciencia desde México, #9, Fondo de Cultura Económica (2003)
- [20] Vera García, *Introducción a la microbiología* (2^a ed.), EUNED (2005)
- [21] Mansfeld F., *The interaction of bacteria and metal surfaces*, Electrochimica Acta 52 (2007)
- [22] Cabrera R., Marín J., González I., *La utilización de la espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) para identificar diferentes estados superficiales en el proceso de corrosión del acero el carbono en medios amargos*, Bol. Soc. Quím. Méx. (2007)
- [23] E. Vera López, *Uso de métodos electroquímicos como herramientas para evaluar parámetros de interfase en sistemas heterogéneos metal/medio acuoso*, Rev. Acad. Colomb. Cienc.: Volumen XXXIV, Número 131-Junio de 2010
- [24] A. J. Vázquez Vaamonde, J. J de Damborenea, Juan J, Damborenea González, *Ciencia e Ingeniería de la Superficie de Los Materiales Metálicos*. CSIC-Dpto. de Publicaciones (2001)
- [25] Jose A. González Fernández, *Control de la corrosión: Estudio y medida por técnicas electroquímicas*, CSIC-Dpto. de Publicaciones (1989)
- [26] L. Bilurbina Alter, F. Liesa Mestres, J. I. Iribarren Laco, *Corrosión y protección*, Univ. Politèc. de Catalunya (2004)
- [27] Genescá, Juan. *Técnica de Extrapolación de Tafel o de Intersección*. En: Genescá, Juan. *Técnicas Electroquímicas para el Control y Estudio de la Corrosión*, Ciudad Universitaria, D.F., México. UNAM (2002)
- [28] Liboria Mariaca Rodriguez, *Corrosividad Atmosférica: (Micat-México)*, Plaza y Valdes (1999)
- [29] Galvele, José R. *Corrosión*, Programa regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, Departamento de Asuntos Científicos. Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos. Washington, D.C. (1979)

-
- [30] Alec Groysman, *Corrosion for Everybody*, Springer (2009)
- [31] AWWA (American Water Works Association), *Internal Corrosion of Water Distribution Systems* (Cooperative Research Report (Denver, Colo.), Second Edition (1996)
- [32] Gamry Instruments, *Basics of Electrochemical Impedance Spectroscopy*, Application Note Rev. 1.0 9/3/2010
- [33] T. Perez, *Aplicación de la técnica espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) en el estudio de la corrosión del acero de refuerzo embebido en concreto*, Programa de Corrosión del Golfo de México, Universidad Autónoma de Campeche.
- [34] Mendoza Flores, Juan. *Espectroscopía de Impedancia Electroquímica en Corrosión*, En: Genescá, Juan. *Técnicas Electroquímicas para el Control y Estudio de la Corrosión*. Ciudad Universitaria, D.F., México. UNAM, 2002
- [35] Vedula S. Sastri, *Green Corrosion Inhibitors: Theory and Practice*, John Wiley & Sons (2011)
- [36] Cottis Robert, Turgoose Stephen. *Electrochemical Impedance and Noise*. NACE International, USA (1999)
- [37] Kelly, Robert G; Scully, John R; Shoesmith, David W; Buchheit, Rudolph G, *Electrochemical Techniques in Corrosion Science and Engineering*, 1ª edición, Ed. Marcel Dekker (2003)