

00522  
15 A



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

INFLUENCIA DE LA BACTERIA *Ferrimonas* sp. EN  
LA CORROSION DE UN ACERO BAJO CARBONO  
MEDIANTE LA TÉCNICA DE RUIDO  
ELECTROQUÍMICO.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
INGENIERO QUÍMICO METALÚRGICO  
P R E S E N T A :  
OMAR ROSAS CAMACHO



MEXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUÍMICA

2003



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.

# PAGINACION DISCONTINUA

AUTORIZO A LA DIRECCION GENERAL DE PROGRAMAS DE UNAM a difundir en formato electrónico el contenido de mi trabajo "resolución"

NOMBRE: Genescá Llongueras

FECHA: 28/10/2013

FIRMA: [Signature]

B

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE

Dr. Joan Genescá Llongueras

VOCAL

Dr. Francisco Javier Rodríguez Gómez

SECRETARIO

I.Q.M. José Luis García Villalobos

1er. SUPLENTE

I.Q.M. Marco Antonio Talavera Rosales

2do. SUPLENTE

I.Q. Vianey Torres Mendoza

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA

Laboratorio de Corrosión y Protección  
Edificio D Facultad de Química  
Ciudad Universitaria  
UNAM

Asesor del tema:

[Signature]  
I.Q.M. José Luis García Villalobos

Supervisor técnico:

[Signature]  
Biol. Juan Manuel Romero Domínguez

Sustentante:

[Signature]  
Omar Rosas Camacho

C

## Agradecimientos

*A mis Padres por todo el cariño y apoyo que me han dado*

*A mis Hermanos por estar siempre presentes cuando los he necesitado.*

*A la Universidad por ser mi segundo hogar y por permitir desarrollarme en una institución que es mucho más que una simple escuela.*

*A mis Profesores porque de todos ellos he aprendido algo.*

*A la generación 2003 de la Maestría en Corrosión por su valiosa participación en este trabajo.*

*A mis amigos (ya saben quienes son).*

D

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>2. OBJETIVOS</b>	5
<b>3. ANTECEDENTES</b>	7
3.1 Corrosión	8
3.1.1 Termodinámica de la Corrosión	13
3.1.2 La Cinética de la Corrosión	15
3.1.3 Tipos de Corrosión	16
3.1.3.1 Celdas de Corrosión	16
3.1.3.2 Formas de la Corrosión	18
3.2 Corrosión Microbiológica	20
3.2.1 Corrosión Inducida por Microorganismos en la Industria	21
3.2.2 Interacción entre Microorganismo y superficie metálica	24
3.2.3 Influencia de los Microorganismos en la Corrosión	27
3.2.4 Técnicas de microscopía para el estudio de la Biocorrosión	32
3.2.5 Inhibición de la Corrosión por Microorganismos	34
3.3 Antecedentes de la Bacteria <i>Ferrimonas sp.</i>	39
3.3.1 Clasificación	39
3.3.2 Características de la Bacteria <i>Ferrimonas sp.</i>	40
3.4 La Técnica de Ruido Electroquímico	41
3.4.1 Series de Tiempo en Potencial y Corriente	42
3.4.2 Medición de Ruido en Potencial y Corriente	42
3.4.3 Medición de la Resistencia de Ruido Electroquímico	44
3.4.4 Preparación de Electrodos	45
3.4.5 Selección de la Secuencia de Muestreo y la Duración de la serie de Tiempo	46

E

3.4.6	Análisis de la señal de Ruido Electroquímico	46
3.4.6.1	Análisis en diferentes dominios	46
3.4.6.2	Análisis de las series de tiempo	47
3.4.6.3	Métodos estadísticos para el análisis de las series de tiempo	49
3.4.6.4	Aplicaciones generales a la corrosión	50

#### **4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**

4.1	Material y Equipos	53
4.1.1	Material	54
4.1.2	Equipos	54
4.1.3	Software	55
4.2	Preparación de la Prueba	55
4.2.1	Resiembra de la cepa	55
4.2.2	Preparación de las probetas	57
4.2.3	Preparación de medio de cultivo y agua de dilución	60
4.2.4	Esterilización	62
4.3	Ejecución de la Prueba	62
4.3.1	Preparación del caldo Nutritivo	62
4.3.2	Acoplamiento del sistema biológico	63
4.3.3	Acoplamiento del sistema Térmico	64
4.3.4	Toma de Muestras, Diluciones y Siembras	66
4.3.5	Conteo total en Placa	68

#### **5. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS**

5.1	Curva de Crecimiento	70
5.2	Pruebas Electroquímicas	72
5.2.1	Respuesta en Corriente y en Potencial	73
5.2.2	Resistencia de Ruido	79
5.2.3	Índice de Localización	81
5.3	Microscopía Electrónica	83

F

<b>6. CONCLUSIONES</b>	91
<b>APÉNDICE. Medios de Cultivo</b>	I
<b>GLOSARIO</b>	IV
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	



# **INTRODUCCIÓN**

---

Desde los inicios de la civilización, el hombre ha encarado diversas problemáticas tanto existenciales como materiales. Al no encontrar respuestas satisfactorias en cuanto a las primeras, se ha dedicado a resolver las últimas empeñándose en encontrar una mejor forma de vida: una de las vías para lograr esto, es enfocándose en el desarrollo de tecnología para la obtención de materiales útiles al hombre a partir de las materias primas que la naturaleza nos provee.

Para lograr su objetivo, el hombre ha tenido que desafiar a la naturaleza y desde tiempos ancestrales, desarrolló procesos físicos y químicos de transformación, arrancando de la estabilidad natural a los materiales con la finalidad, entre otras cosas, de "dar vida" a objetos útiles que le faciliten la existencia.

El desarrollo de la civilización ha estado sustentado en gran medida en el empleo de materiales metálicos, los cuales tienen un sin fin de aplicaciones en la industria ya que las herramientas, los medios de transporte y almacenamiento de diversos bienes están constituidos en su mayoría de metales y/o sus aleaciones. Los metales se han ocupado desde las herramientas de caza y armas de la antigüedad hasta las nuevas aleaciones utilizadas en la conquista del espacio. De ahí entonces, la importancia de tomar las medidas necesarias para mantener los materiales metálicos en un estado de funcionamiento óptimo, ya que una falla en cualquier artefacto constituido por un material metálico puede acarrear diversos costos (económicos, ambientales, políticos, sociales).

La factura que hay que pagar a la naturaleza cuando se utilizan materiales metálicos es la corrosión de los mismos. Cuando se realiza un proceso de transformación termodinámico en el que se da origen a metales a partir de compuestos minerales, se llevan a cabo reacciones reversibles, de tal manera que con el paso del tiempo, los metales tienden a regresar a su estado de estabilidad, a su estado natural, por lo tanto, los objetos metálicos se vuelven

inservibles. Este fenómeno es el motivo de los principales costos de industrias que involucran, entre otras, a la industria del transporte, y de la transformación.

Dentro de la industria de la transformación, uno de los principales ramos es la industria del petróleo, la cual sufre en gran escala el problema de corrosión debido a la gran variedad de ambientes agresivos que involucra. La economía de nuestro país depende en gran medida de los ingresos producidos por la industria petrolera, desafortunadamente dichos ingresos se ven reducidos por los diversos factores entre los que se encuentran los problemas debidos a la corrosión de las diversas estructuras que forman parte de las instalaciones de extracción, almacenamiento y transporte de crudo.

En la recuperación secundaria para la extracción de crudo en los yacimientos de petróleo, frecuentemente se recurre a incrementar la presión dentro del yacimiento mediante la inyección de diversos fluidos. Uno de los fluidos comúnmente utilizado es el agua de las cercanías del yacimiento, de tal manera que en la tubería, generalmente constituida de acero, encontramos una gran variedad de sustancias que pueden ser iniciadoras de la corrosión en este sistema industrial.

Las películas microbiológicas se desarrollan en las superficies en contacto con ambientes acuosos; la corrosión inducida microbiológicamente es causada por la presencia y actividad de microorganismos en las bio-películas formadas y generalmente se manifiesta de manera localizada. Estos microorganismos pueden afectar mediante: la producción de sulfuros, la producción de ácido, la producción de amoníaco, la deposición de metales y la oxidación y reducción de metales.

La red de ductos de Petróleos Mexicanos (PEMEX) cuenta con aproximadamente 56 mil kilómetros, de los cuales 54 mil son terrestres y 2 mil son marinos [1]. Se ha descubierto que México tiene una diversidad microbiológica muy amplia, por ello, es necesario realizar investigaciones que generen conocimientos en este campo.

## INTRODUCCIÓN

---

4

El principal objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia que tiene la bacteria *Ferimonas* sp en la corrosión de un acero de uso industrial (API-X52). Para ello, se aisló la bacteria de interés eliminando la influencia que puedan presentar otros microorganismos, y para la evaluación de la corrosión producida por la bacteria, se utilizó la técnica experimental de Ruido Electroquímico, con la cual es posible evaluar principalmente el fenómeno de Corrosión Localizada.

## **OBJETIVOS**

---

- Determinar la influencia de la bacteria *Ferrimonas sp.* en la corrosión de un acero bajo carbono utilizando la técnica de Ruido Electroquímico.
- Corroborar la utilidad del Ruido Electroquímico para determinar el efecto de la bacteria *Ferrimonas sp.* en la corrosión de un acero bajo carbono.
- Relacionar la actividad bacteriana con la señal obtenida mediante la técnica de Ruido Electroquímico.

7

# **ANTECEDENTES**

---

### 3.1 CORROSIÓN

Los primeros contactos del hombre con los metales, ocurrieron con aquellos que, debido a propiedades intrínsecas del metal, se encuentran en su forma nativa, es decir, sin combinarse con otros elementos, como el caso del oro. Debido a la fascinación que provocaban en las sociedades antiguas, dichos metales comenzaron a ser trabajados, sin embargo, solamente se producían piezas a manera de ornato, ya que a pesar de su rigidez no presentaban propiedades mecánicas óptimas para otro uso y en cambio, ofrecían grandes cualidades para ser trabajados artesanalmente. Es por ello que el ser humano se dio a la tarea de encontrar otros metales que pudieran tener mejor respuesta mecánica. Desde que el hombre descubrió la manera de obtener metales a partir de materias primas y de elaborar combinaciones entre ellos o con otros minerales, se dio cuenta de la gran utilidad que podía darle a estos materiales y a medida que descubría más acerca de los metales su civilización avanzaba a la par de los descubrimientos. Sin embargo, y muy a su pesar, también se dio cuenta que los "nuevos" materiales se deterioraban con el tiempo o en condiciones específicas volviéndose inservibles; este deterioro de los metales se conoce ahora como *corrosión*. Desde aquellos tiempos y hasta ahora, los interesados en el mundo de los metales se han dado a la tarea de controlar la corrosión, logrando grandes avances pero nunca evitándola por completo. Termodinámicamente, la corrosión se refiere al cambio de energía libre de un alto valor, en su forma metálica, a un valor menor en forma de óxido o hidróxido, los cuales son productos de la corrosión que se denominan *herrumbre*. El tipo de corrosión más común se debe a la acción simultánea de la atmósfera, el agua y diversas sustancias disueltas en las mismas. En todos los casos, se lleva a cabo la disolución de la pieza metálica debido a reacciones electroquímicas que ocurren de manera simultánea y que involucran transferencias de electrones de manera análoga a las celdas electroquímicas, de



tal manera que se llevarán a cabo reacciones de oxidación en donde se liberan electrones y reacciones de reducción en donde estos electrones son captados. Un metal en contacto con un medio se corroerá al oxidarse liberando electrones, sí y sólo sí, existe una especie química en solución que pueda reducirse utilizando los electrones libres. Es posible diferenciar el fenómeno de corrosión entre corrosión química y corrosión electroquímica.

La corrosión química involucra todos los casos en donde el metal reacciona con medios no iónicos, por ejemplo fusión por temperatura o formación de óxidos por el mismo medio.

La corrosión electroquímica considera la participación de iones. Es usual designar corrosión electroquímica a la que implica un transporte simultáneo de electricidad a través de un electrolito. A este importante grupo pertenece la corrosión en soluciones salinas y agua de mar, la corrosión atmosférica, la corrosión en suelos etc.

En general se consideran todos los procesos de corrosión como electroquímicos. La corrosión se lleva a cabo en un medio acuoso mediante procesos electroquímicos ya que existe un efecto químico que induce el paso de una corriente eléctrica. Debido a que los metales son buenos conductores de la corriente, son susceptibles a este tipo de comportamiento.

Si se considera un metal colocado en una solución acuosa de sus propios iones (fig. 3.1), se establece el equilibrio:

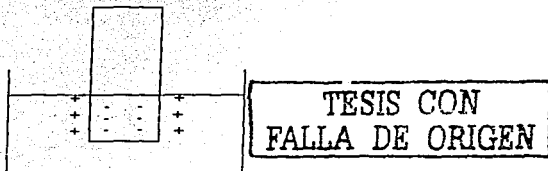
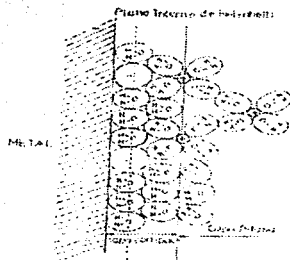


Figura 3.1 Distribución de las cargas en un electrodo en solución

Este proceso físico deja al metal con carga negativa. En este sistema, considerado una media celda, los cationes son atraídos al metal formando una doble capa eléctrica creando

una diferencia de potencial eléctrico entre el metal y la solución. Cuando un metal se disuelve puede incrementar su negatividad a medida que aumentan las cargas positivas del metal que pasan a la solución. Esto continúa hasta que alcanza un equilibrio dinámico. En este punto las cargas negativas en el metal son balanceadas por cargas positivas en la superficie del mismo y la diferencia en potencial formada se conoce como el potencial de electrodo [2,3].

Existen varios modelos para explicar lo que sucede en la superficie del electrodo. Los modelos más conocidos son el de Helmholtz, el de Guy-Chapman y el modelo de Stern [2]. El primero supone que una capa de iones en solución acuosa es sujeta firmemente a la superficie cargada del metal, lo cual solo se aplica a soluciones concentradas. El segundo modelo involucra soluciones diluidas y cambia las distribuciones de las cargas en una capa móvil hacia el cuerpo del electrolito. El tercer modelo contempla los cambios en el electrolito y propone una combinación de ambos dependiente del avance del proceso (fig. 3.2).



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Figura 3.2 Representación esquemática de la distribución en la doble capa [4]

El potencial absoluto de electrodo no puede ser medido; cualquier intento de conectar la solución a un medidor de voltaje, implica la alteración del medio y por lo tanto del potencial. Es un principio de la electrostática que una diferencia de potencial no puede ser definida entre dos puntos que se encuentren en diferentes fases. De tal suerte que es necesario comparar potenciales de electrodos en una celda electroquímica que pueda producir una respuesta.

Una celda electroquímica simple consiste de dos medias celdas con metales  $M_1$  y  $M_2$  en solución acuosa de sus propios iones. Para completar el circuito los electrodos son conectados por un circuito externo además de la conexión eléctrica entre las dos soluciones sin mezclarlas, lo cual puede lograrse con el empleo de un puente salino con los extremos sellados con un material poroso (fig 3.3).

El flujo de electrones será del ánodo al cátodo y la corriente fluirá en el sentido contrario.

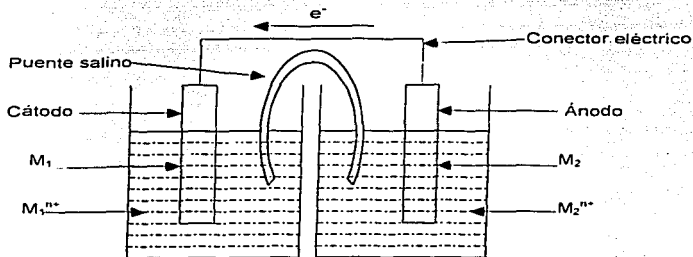


Figura 3.3 Componentes de una celda electroquímica

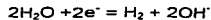
Generalmente en el ánodo se lleva a cabo la reacción de oxidación, con una liberación de electrones, sin embargo el proceso catódico se puede manifestar en diversas maneras, por ejemplo:

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

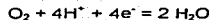
Evolución de hidrógeno:



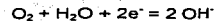
En medio alcalino:



Reducción de oxígeno en medio ácido:



Reducción del oxígeno en medio neutro-alkalino:



Aunque el potencial de electrodo de cualquier par de medias celdas puede ser comparado, el camino más usual para obtener potenciales consistentes es compararlos con un electrodo de referencia. Se acostumbra utilizar el potencial del electrodo de hidrógeno como la referencia de todas las medias celdas. El valor que cualquier celda proporcione, será el potencial del electrodo referido al potencial del hidrógeno [2].

$$E_M = \phi_{\text{H}_2} - \phi_M$$

Donde  $\phi_{\text{H}_2}$  y  $\phi_M$  son los potenciales absolutos del electrodo de hidrógeno y del electrodo metálico respectivamente. Entonces, para un electrodo con un potencial más alto que el de hidrógeno,  $E_M$  será negativo, mientras que para un electrodo con un potencial más bajo,  $E_M$  será positivo. El signo del potencial de electrodo indica la dirección del flujo de electrones, del metal al hidrógeno si es negativo y viceversa.

REACCION DE ELECTRODO	$E_M^0 \text{ ó } \phi_{\text{H}_2} - \phi_M \text{ (V)}$	REACCION DE ELECTRODO	$E_M^0 \text{ ó } \phi_{\text{H}_2} - \phi_M \text{ (V)}$
$\text{Li}^+ + \text{e}^- = \text{Li}$	-3.05	$\text{Fe}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Fe}$	-0.44
$\text{K}^+ + \text{e}^- = \text{K}$	-2.93	$\text{Pb}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Pb}$	-0.13
$\text{Na}^+ + \text{e}^- = \text{Na}$	-2.71	$2\text{H}^+ + 2\text{e}^- = \text{H}_2$	0.00
$\text{Mg}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Mg}$	-2.37	$\text{Cu}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Cu}$	0.34
$\text{Al}^{3+} + 3\text{e}^- = \text{Al}$	-1.66	$\text{Ag}^+ + \text{e}^- = \text{Ag}$	0.80
$\text{Zn}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Zn}$	-0.76	$\text{Hg}^{2+} + 2\text{e}^- = \text{Hg}$	0.85

Tabla 3.1 Reacciones electroquímicas de potenciales de electrodo para varios metales tomando al potencial del hidrógeno como referencia. [4]

Se puede observar de la tabla 3.1, que al potencial del electrodo de hidrógeno le corresponde un valor de cero, lo cual significa que todos los demás están referidos al valor de éste. Sin embargo, existen dificultades prácticas en la utilización del electrodo de

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

hidrógeno limitando su uso a nivel laboratorio, por lo que se ha recurrido a emplear el valor de potencial de otros electrodos como referencias. En la tabla 3.2 se presentan los electrodos de referencia más comunes.

Nombre	Reacción de Equilibrio	Ecuación de Nernst	Potencial (V vs ENH)	Coefficiente (mV °C <sup>-1</sup> )
Normal de Hidrógeno	$2 H^+ + 2 e^- = H_2$	$E^0 - 0.059pH$	0.00	..
Cloruro de Plata	$AgCl + e^- = Ag + Cl^-$	$E^0 - 0.059 \log a_{Cl^-}$		-0.6
		KCl saturado	0.25	..
Calomel	$Hg_2Cl_2 + 2 e^- = 2 Hg + 2 Cl^-$	$E^0 - 0.059 \log a_{Cl^-}$		..
		0.1 M KCl	0.334	-0.06
		1.0 M KCl	0.280	-0.24
(SCE)		KCl saturado	0.241	-0.65
Sulfato Mercuroso	$Hg_2SO_4 + 2 e^- = 2 Hg + SO_4^{2-}$	$E^0 - 0.0295 \log a_{SO_4}$	0.615	..
Oxido Mercurico	$HgO + 2 e^- + 2 H^+ = Hg + H_2O$	$E^0 - 0.059 pH$	0.926	..
Sulfato de Cobre	$Cu^{2+} + 2 e^- = Cu$ (solución de sulfato saturada)	$E^0 + 0.0295 \log a_{Cu}$	0.340	..

Tabla 3.2 Electrodos de referencia más comunes [5].

### 3.1.1 TERMODINÁMICA DE LA CORROSIÓN

El fenómeno de corrosión dependerá de las circunstancias en que se encuentre el metal. Algunos metales, como el hierro, son inestables en la mayoría de medios acuosos, pero otros sufrirán inestabilidad solamente en un medio determinado.

La estabilidad se relaciona con la tendencia de un sistema a los cambios. Sin importar que se trate de un sistema microscópico o un macroscópico, si se provoca un cambio súbito en el

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

sistema, éste es llevado a la inestabilidad, y el sistema se moverá hasta un estado más estable. Una tendencia natural de todos los sistemas es moverse hacia su estado de mínima energía, es decir, donde tenga que emplear una mínima cantidad de energía. Estrictamente hablando, para procesos ocurriendo a presión constante, como la mayoría de los procesos de corrosión, el parámetro que dicta la estabilidad es la entalpía  $H$ , aunque para las consideraciones de estudio y desarrollo de la investigación en el fenómeno, se desprecia y se utiliza la energía libre  $G$ . La importancia que un sistema se dirija hacia su estado de menor energía recae en que el proceso será espontáneo y no requerirá la aplicación de energía para ocurrir. La regla general indica que si el cambio en la energía libre de Gibbs de un proceso es menor a cero, éste se llevará a cabo de manera espontánea.

En el fenómeno de corrosión se utiliza la Termodinámica para predecir el comportamiento de un metal en solución acuosa y saber de esta manera si en el metal se estará llevando a cabo la corrosión.

Una expresión muy utilizada es la *Ecuación de Nernst* [2,6], la cual es una de las herramientas termodinámicas básicas para comprender el comportamiento de los metales en solución. La expresión indica que a temperatura ambiente y presión de 1 atm, el potencial del electrodo dependerá de su potencial en estado estándar referido al potencial de hidrógeno, del número de electrones que intervienen en la reacción y de las concentraciones de los iones en solución del sistema. La Ecuación de Nernst se utiliza, entre otras cosas, para la construcción de los Diagramas de Pourbaix [6,7].

Los diagramas de Pourbaix son también llamados diagramas potencial-pH debido a las variables que se grafican en ellos, el potencial como variable dependiente y el pH como variable independiente. En el diagrama, se ubican zonas de predominancia de especies, las cuales son delimitadas por los equilibrios entre las especies de las zonas colindantes.

Dependiendo de los valores combinados de pH y potencial, se podrá saber si se encuentra en una zona de inmunidad, de corrosión o de pasivación.

### 3.1.2 LA CINÉTICA DE LA CORROSIÓN

Si se acopla una celda a una fuente de poder y se cambia su potencial, circulará una corriente neta que provocará la disolución de uno de los electrodos y/o el depósito en el otro. Para obtener la circulación de esta corriente es necesario polarizar los electrodos, también es válido hacerlo a la inversa, cuando se hace circular una corriente, los electrodos se polarizan.

La polarización es el cambio del potencial de un electrodo con respecto a su potencial de equilibrio, necesario para generar un flujo de electrones a través del circuito. Cuanto mayor sea esta diferencia, mayor será la polarización del electrodo. Este cambio de potencial se denomina sobrepotencial y se representa por la letra  $\eta$ . Al aplicar dicho sobrepotencial, es posible identificar diferentes zonas dependiendo de su magnitud:

- Procesos de transporte de la sustancia que reacciona desde el seno de la disolución hasta la doble capa eléctrica.
- Transferencia de carga en una zona donde un electrón del metal pasa a la sustancia reaccionante y cambia su estado de oxidación.
- Reacción química previa a la transferencia de carga.

Si la velocidad del proceso de transferencia de carga es mayor que la de transporte de masa, al cabo de cierto tiempo ocurrirá una oclusión en algún electrodo provocando una celda de concentración diferencial. En un fenómeno de corrosión es fundamental estudiar la zona de transferencia de carga, y su relación con el sobrepotencial. Al tratar de encontrar esta relación, el punto de partida es la aplicación del complejo activado [2]. De acuerdo con ella, el paso de productos a reactivos se produce a través de un estado intermedio, y la velocidad de descomposición de éste es la que determina la velocidad de reacción.

La Ecuación de Butler-Volmer [2,6] representa la relación entre la velocidad de un proceso y el sobrepotencial aplicado en una reacción controlada simplemente por transferencia de carga, y es fundamental en los procesos de corrosión ya que a partir de esta ecuación es posible predecir la velocidad de corrosión de un metal en un medio determinado.

### 3.1.3 TIPOS DE CORROSIÓN

#### 3.1.3.1 CELDAS DE CORROSIÓN

En la práctica, rara vez los ánodos y los cátodos son realmente como se representan en los esquemas. En el más simple de los casos se dan en el contacto entre dos metales, con uno de ellos volviéndose más anódico con respecto al otro. Las celdas de corrosión más comunes son muy numerosas y pequeñas, y ocurren en diferentes puntos de la misma superficie metálica; en estos casos, tanto ánodos como cátodos se forman por diferencias locales en la estructura metálica y su ambiente.

En general, se consideran tres tipos de celdas de corrosión [3]:

- a) Celdas galvánicas
- b) Celdas de concentración
- c) Celdas de temperatura diferencial

#### a) Celdas galvánicas

Son aquellas formadas por pares galvánicos, es decir, cuando dos metales se encuentran en contacto físico, debido a su naturaleza, se encuentran también en contacto eléctrico; si uno de ellos posee un potencial de electrodo más positivo que el otro, el primero llevará a cabo la reacción catódica y el segundo la reacción anódica.

Este comportamiento se aprovecha en técnicas de protección contra la corrosión como la protección del acero con Zn en el galvanizado, en donde una capa de zinc cubre por completo al acero y al poseer un potencial más negativo se convierte en el ánodo,



convirtiendo automáticamente al acero en cátodo. Otro ejemplo es la protección del acero por ánodos galvánicos, en donde se contactan eléctricamente el acero y un metal con potencial más negativo con la finalidad de corroer al metal y no al acero.

#### b) Celdas de concentración

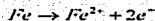
Este tipo de celdas involucra dos electrodos en contacto con soluciones con diferentes concentraciones de componentes. Como cada sistema tiene diferentes componentes, por lo que pueden existir varias divisiones en este tipo de celdas.

##### Celda de concentración diferencial

Cuando dos electrodos idénticos se encuentran en dos medias celdas que tienen diferente concentración del mismo tipo de iones. El electrodo inmerso en la solución más diluida se convertirá en el ánodo y el otro en el cátodo.

##### Celdas de aireación diferencial

Esta celda tiene su origen en la diferencia en la concentración de oxígeno y es mucho más común que la celda de concentración diferencial. Existen diversos casos de celdas con distribuciones de oxígeno no homogéneas, un ejemplo muy usual es la formación de herrumbre debajo de una gota de agua. Existen diferencias en la cantidad de oxígeno entre el centro y la periferia de la gota de tal manera que en el centro la reacción que se lleva a cabo es:



mientras que en la periferia se tiene:



En general, las secciones inmersas más profundamente serán anódicas debido a la diferencia en concentración de oxígeno con las zonas más cercanas a la superficie.

### c) Celdas de Temperatura Diferencial

Este tipo de celda puede ocurrir cuando los electrodos del mismo material son inmersos en un electrolito con la misma composición inicial pero cada uno se encuentra a diferente temperatura. Un ejemplo común son los intercambiadores de calor. Al principio, la termodinámica indica que a medida que se eleva la temperatura, el potencial se vuelve más negativo. La temperatura tiene una influencia en el potencial estándar, en la solubilidad de los productos de corrosión y en la conductividad iónica, así que la predicción de un proceso se vuelve compleja. En la práctica el electrodo con mayor temperatura es usualmente anódico sin embargo se ha demostrado que la polaridad cambia con el tiempo.

### 3.1.3.2 FORMAS DE LA CORROSIÓN

En un principio, se pensaba que la corrosión en un metal se daba de manera homogénea en toda la superficie en contacto con el electrolito y avanzaba hacia el interior del electrodo metálico, sin embargo, se descubrió que existen diversos tipos de corrosión que tienen diferencias en cuanto a la forma de ataque, los productos de corrosión formados, el tipo de ambiente en el que se encuentra el metal, la geometría del electrodo etc. A continuación se presentan características de corrosión uniforme y localizada.

#### CORROSIÓN UNIFORME

Provoca la mayor destrucción del metal en cuanto a masa, pero tiene la ventaja que puede ofrecer un tiempo de vida estimado del metal en corrosión. Se presenta en metales muy reactivos o en medios muy agresivos, se presenta corrosión libre y ningún tipo de pasivación. Esta forma de corrosión puede ser expresada en términos de profundidad de penetración por unidad de tiempo o pérdida de peso por unidad de tiempo. Las unidades frecuentemente utilizadas son milipulgadas de penetración por año o milímetros de penetración por año. Para

condiciones de servicio se considera satisfactoria una velocidad de corrosión de menos de 0.1 mm/año [8].

**CORROSIÓN LOCALIZADA**

El tipo de daño producido por este fenómeno se debe principalmente a la formación de capas discontinuas sobre los metales pasivos. Se presenta en metales que forman una capa pasivante que es rota por algún mecanismo en secciones puntuales. La corrosión localizada se divide en varios sub tipos, como corrosión por picado, corrosión por "crevice", corrosión inter-granular, dealeación, erosión-corrosión, erosión cavitación, corrosión por fatiga, corrosión por esfuerzos entre otras [8]. Algunas formas de corrosión se presentan en la figura 3.4.

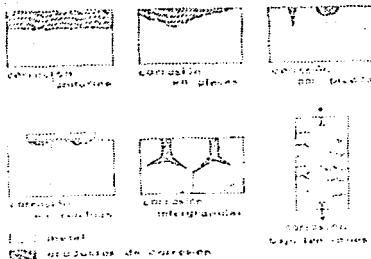


Figura 3.4 Diferentes tipos de corrosión [3]

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### 3.2 CORROSIÓN MICROBIOLÓGICA

La corrosión microbiológica incluye todo fenómeno de destrucción metálica en el que los microorganismos intervienen, ya sea actuando sobre la superficie metálica o cambiando el entorno en algunas zonas de la superficie, promoviendo con esto comportamientos que habitualmente no ocurren [10,13].

La influencia de los microorganismos en los procesos de corrosión la sugirió Garret en el final del siglo XIX, refiriéndose a la acción corrosiva sobre el plomo del amoniaco, nitratos y nitritos producidos por las bacterias. Posteriormente, aproximadamente en 1910, Gaines estableció que la corrosión del hierro en suelos se debía a la asociación de ciertos tipos de bacterias, en especial, aquellas vinculadas al ciclo del azufre (bacterias reductoras y oxidantes del azufre) y ferrobacterias.

En 1919, Ellis y Harder informaron sobre la formación de depósitos por ferrobacterias en las tuberías de agua.

En 1934, von Wolzogen y van der Vlugt propusieron un mecanismo para explicar la acción de las bacterias reductoras del azufre, en ausencia de oxígeno, en tuberías de hierro enterradas en suelos anegados. La teoría propuesta por estos autores se basa fundamentalmente en la acción directa de las bacterias anaerobias<sup>1</sup> del género *Desulfovibrio* sobre la cinética del proceso de corrosión a través de un mecanismo de depolarización catódica como se muestra en la figura 3.5. La gran mayoría de los estudios sobre la

---

La clasificación de los microorganismos en base a su consumo de oxígeno es como sigue:  
Organismos Aerobios: Aquellos que requieren oxígeno disuelto para sus procesos metabólicos y no pueden existir privados de dicho gas.  
Organismos Anaerobios: Aquellos que solamente se encuentran en medios donde no hay oxígeno disuelto. El oxígeno es altamente tóxico para estos seres.  
Organismos Facultativos: Aquellos que tienen la capacidad de vivir en medios aerobios y anaerobios utilizando oxígeno de compuestos inorgánicos oxidados.

corrosión de metales por microorganismos se destinó al uso de este mecanismo para la corrosión del hierro y acero en medios anaeróbicos neutros [13].

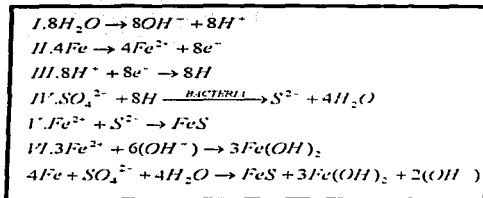


Figura 3.5 Teoría de depolarización catódica. [12]

Posteriormente, se dio crédito al estudio de la corrosión por microorganismos a otros metales, principalmente el aluminio y sus aleaciones en medios anaeróbicos y aeróbicos, como consecuencia de la severa corrosión observada en aleaciones de aluminio en contacto con combustibles derivados del petróleo, particularmente en tanques y alas de aviones a retropropulsión.

### 3.2.1 CORROSIÓN INDUCIDA POR MICROORGANISMOS EN LA INDUSTRIA

Debido a que los microorganismos que participan en los diferentes procesos habitan en una gran variedad de sistemas naturales y en condiciones ambientales muy diversas e incluso sobreviviendo en presencia de niveles de nutrientes muy bajos, los casos de corrosión debidos a ellos son muy variados. Salvo en casos en que las características fisicoquímicas del medio son incompatibles con la vida, es factible encontrar corrosión microbiana en ambientes tan diferentes como suelos, agua de mar y agua dulce, sistemas industriales de enfriamiento, tanques de almacenaje de combustible, sistemas intercambiadores de calor, cubiertas asfálticas, estructuras de concreto, etc.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En la década de los 80's, muchos tratamientos de aguas se basaban en la utilización de mezclas de inhibidores de corrosión anódicos y catódicos, como el cromato y el zinc para disminuir los efectos agresivos del agua concentrada. El control de incrustaciones se realizaba agregando ácido sulfúrico para mantener un pH ligeramente ácido promoviendo la disolución de carbonatos. Los efectos de mantener un pH bajo eran contrarrestados por los inhibidores de corrosión. El bioensuciamiento era mantenido bajo control con la adición de compuestos clorados. Desde el comienzo de la década de los 90's, se produjo un cambio drástico en las estrategias empleadas en el tratamiento de aguas industriales. El uso de cromatos se prohibió y se cambiaron los inhibidores, con lo que se mantenía un pH ligeramente alcalino. Las consecuencias de este cambio resultaron en un incremento en la cantidad de sólidos en suspensión, un mayor número y una mayor variedad de microorganismos así como una mayor acumulación de depósitos orgánicos e inorgánicos [9]. A pesar que la corrosión microbiológica afecta industrias como la extractiva del petróleo en los procesos de recuperación secundaria, la industria del papel, alimentos, naval, aeronáutica, etc., solamente a finales del siglo XX se comenzaron a estudiar los complejos casos de corrosión microbiana, procurando relacionar los aspectos biológicos con los electroquímicos que intervienen en el proceso de corrosión.

Si bien no existe un reporte actualizado de los perjuicios económicos causados por la biocorrosión, algunas compañías reportan estas pérdidas y las presentan al conocimiento público. ESCOM, la compañía que produce el 90% del requerimiento energético de Sudáfrica, ha detectado corrosión por microorganismos en sistemas de enfriamiento con costos de millones de dólares anualmente. Se ha detectado corrosión por picado en tubos intercambiadores de calor en Canadá por la empresa Hydro de Ontario con un costo de 300,000 dólares por unidad por día y en el Reino Unido se ha propuesto que el 50% de las fallas en tuberías involucran microorganismos y que aproximadamente el 20% de toda la

corrosión metálica los incluye [13]. A pesar de los datos encontrados, en muchos países no se toma en cuenta la corrosión inducida por microorganismos, por ejemplo en Estados Unidos, se gasta el 4% del producto interno bruto en el fenómeno de la corrosión y de esa cantidad, solamente el 0.4% se destina a la corrosión microbiológica a manera de biocidas [14]. Las pérdidas económicas en la industria del petróleo y gas son sustanciales: se ha estimado que en una industria petrolera, el 34% de los daños por corrosión se relaciono con los microorganismos. Este hecho, aunque parezca exagerado, puede convertirse en algo real si tomamos en cuenta que en muchas ocasiones el microorganismo no es el causante directo de la corrosión, sino que interviene de manera indirecta.

En las embarcaciones, los daños de gran importancia son debido al ensuciamiento de las aguas y a las biomasas adheridas a las superficies en contacto con el agua, afectando con estos cúmulos la protección a la corrosión diseñada para cada barco.

Además de los casos anteriores, es frecuente encontrar bacterias sulfato reductoras en procesos de corrosión que afectan las tuberías de sistemas refrigerantes. La pérdida por evaporación de agua conduce a una concentración de nutrientes. El tiempo de residencia, la temperatura del agua y la relación superficie-volumen son generalmente altos, por consiguiente, son posibles altas velocidades de crecimiento microbiano.

En la industria aeronáutica, por causa de los contaminantes microbianos de combustible de jet, se informaron severos casos de corrosión en naves que utilizan combustibles similares a los "jet-fuels" (combustible diesel-naval). En estos casos, los contaminantes microbianos provienen del agua de mar que se utiliza para desplazar el combustible de un tanque a otro dentro del navío [9]. Se informaron de igual forma, casos de corrosión en tanques de almacenamiento de combustible de gran volumen construidos de acero al carbón.

### 3.2.2 INTERACCIÓN DE MICROORGANISMO Y SUPERFICIE

La corrosión metálica se ha atribuido a la formación de biopelículas, sin embargo, han sido evaluadas por separado ya que se les considera procesos independientes que ocurren simultáneamente o de manera secuencial. Con el empleo de técnicas electroquímicas y de microscopía electrónica, es posible evaluar ambos procesos e incluso proponer mecanismos de corrosión [13].

Las biopelículas pueden ser consideradas como una matriz gelatinosa de material segregado por los microorganismos, con un elevado contenido de agua, células microbianas y compuestos inorgánicos variados. Las reacciones que ocurren entre los metabolitos microbianos y la superficie metálica, tienen lugar por debajo de la biopelícula o dentro de su estructura. Es por ello que un factor clave para la modificación de las condiciones fisicoquímicas en la superficie metálica es la formación de la biopelícula (fig 3.6). El conocimiento del efecto de las biopelículas sobre la reacción de corrosión, es necesario para implementar medidas de prevención y control adecuadas en sistemas industriales.

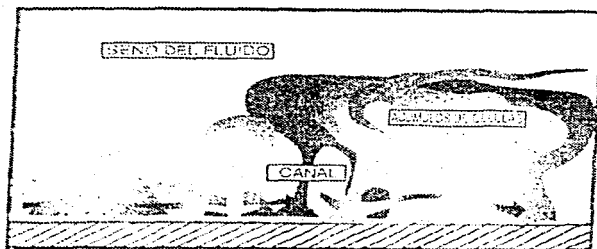


Figura 3.6 Representación de una biopelícula adherida a una superficie. [9]



Los procesos de adherencia son el requisito previo necesario para las relaciones simbióticas entre micro y macroorganismos. La corrosión de los metales en ambientes naturales será función de las características propias del metal y de factores ambientales como la temperatura, velocidad y composición química del agua presente en el ecosistema. Las superficies naturales son colonizadas en 4 horas por algunas bacterias [10].

La colonización posterior por otros microorganismos produce la compleja película de ensuciamiento que contiene microorganismos, productos de lisis celular y productos de corrosión. Un esquema del bioensuciamiento se observa en la figura 3.7

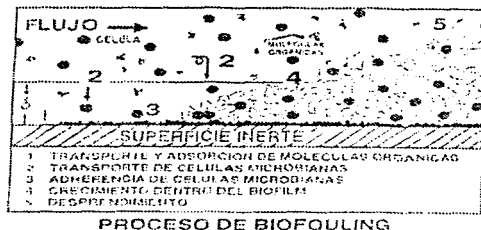


Figura 3.7 Proceso de bioensuciamiento en condiciones reales. [9]

En los procesos de corrosión, la formación de biopelículas tiene dos facetas diametralmente opuestas; en una de ellas, se ha formulado la teoría de la formación de celdas de aireación diferencial provocadas por la adherencia de la biopelícula en la superficie metálica creando zonas anódicas bajo la biomasa y zonas catódicas alrededor de la misma [13].

La otra faceta de la biopelícula es servir como protección a la superficie metálica evitando la difusión de componentes agresivos o cambiando la naturaleza de dichos componentes convirtiéndolos en elementos pasivos.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Previamente a la colonización de una superficie metálica por microorganismos se adsorbe una "película acondicionante" de macromoléculas en la interfase modificando la distribución de cargas eléctricas en dicha superficie. La adsorción posterior de las células microbianas y su actividad metabólica impactan sobre los procesos electroquímicos que pueden ocurrir en la interfase metal/solución. Las células adheridas crecen y se reproducen formando colonias que constituyen zonas heterogéneas que favorecen la formación de zonas localizadas que actúan como ánodos o cátodos sobre la superficie del metal. Esta colonización no uniforme induce la formación de celdas de aireación diferencial donde las zonas bajo las colonias microbianas presentan condiciones anaeróbicas, por el consumo respiratorio de los microorganismos, respecto a las áreas circundantes, donde la concentración de oxígeno es mayor. Se tiene así una zona anódica donde la disolución metálica se vería favorecida respecto a una zona donde la reacción catódica de reducción del oxígeno es la predominante [9].

Se ha revelado que en un medio líquido, una biopelícula puede causar un agotamiento del oxígeno presente en tan solo 180 micrometros de espesor [10]. Como en ese nivel el medio es anaerobio, las bacterias causantes de corrosión, como las bacterias sulfato reductoras, pueden proliferar aún cuando en el seno del agua en contacto con la biopelícula la concentración de oxígeno disuelto sea elevada.

Los microorganismos forman consorcios microbianos o comunidades mixtas en el espesor de las biopelículas que producen efectos sinérgicos incapaces de ser originados por especies en forma aislada. La coexistencia de especies aeróbica y anaeróbicas sobre superficies de acero al carbono, permite que bacterias capaces de reducir los compuestos ferricos a ferrosos produzcan la disolución de capas pasivantes del hierro constituidas predominantemente por óxidos e hidróxidos férricos. De esta manera se facilita el acceso a

la superficie metálica de los sulfuros y otros productos corrosivos generados por bacterias reductoras de sulfato que conforman consorcios microbianos en el espesor de la biopelícula. El impacto de los metabolitos excretados por los microorganismos sobre la reacción de corrosión se ve intensificado en las zonas de contacto entre los microorganismos y la superficie metálica.

Las distintas formas en que la presencia de la biopelícula puede influir en un proceso de corrosión se presentan de la siguiente manera [9]:

- Influenciando el metabolismo microbiano a través de la estructura de la biopelícula (especialmente si es heterogéneo).
- Influenciando la concentración de productos metabólicos dentro de la biopelícula.
- Restringiendo el pasaje de especies químicas a través de la acción de las sustancias exopoliméricas (EPS) de la biopelícula.
- A través de una posible acción quelatante de la biopelícula sobre cationes.
- Modificando la actividad eléctrica del medio a través de la acción de las sustancias exopoliméricas (EPS).
- Dificultando el acceso de sustancias biocidas.
- Alterando la concentración o acción de inhibidores de corrosión.

### 3.2.3 INFLUENCIA DE LOS MICROORGANISMOS EN LA CORROSIÓN

Los microorganismos participan en el proceso de la corrosión en alguna o algunas de las siguientes maneras [10]:

- Produciendo sustancias corrosivas originadas en su crecimiento o metabolismo, las cuales transforman un medio inerte en agresivo.
- Originando celadas de aireación diferencial por efecto de un consumo desigual de oxígeno en zonas localizadas.
- Destruyendo cubiertas protectoras sobre el metal que son metabolizadas por los microorganismos.
- Consumiendo sustancias inhibitorias de la corrosión facilitando de esa forma la acción de iones agresivos presentes en el medio o producidos por el metabolismo

microbiano como es el caso de la corrosión en aleaciones de aluminio en los sistemas agua/combustible.

Pero también:

- Inhibiendo la corrosión mediante la biopelícula.
- Consumiendo sustancias agresivas al metal
- Modificando las condiciones del medio.

Aunque se pueden mencionar de manera general la influencia de los microorganismos en la corrosión, cada biosistema ofrece diferencias en cuanto a las características del fenómeno corrosivo dependiendo del microorganismo que se encuentre presente en el medio.

Como se ha expuesto hasta el momento, existe una gran diversidad de microorganismos que influyen en el fenómeno de corrosión metálica. La capacidad de estos seres para influenciar en la corrosión de metales considerados resistentes a este fenómeno, hace a los microorganismos un gran reto a la estabilidad de esos metales.

Los microorganismos involucrados en el fenómeno corrosivo son los hongos, las algas y las bacterias. Los principales tipos de bacterias asociadas con las fallas en acero y hierro son las Bacterias Sulfato Reductoras, Bacterias Oxidantes de Sulfuros, Bacterias Oxidantes/Reductoras del hierro, Bacterias Oxidantes del Manganeseo y las Bacterias que Secretan Ácidos Orgánicos. A continuación se presentan solamente algunos que han demostrado tener un mayor peso en el fenómeno [13].

#### BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS

Son un grupo de bacterias anaerobias las cuales llevan a cabo reducción disimilatoria de compuestos de azufre tales como sulfato, sulfito, tiosulfato, e inclusive azufre elemental a sulfuro. A pesar que las bacterias sulfato reductoras son consideradas estrictamente anaerobias, algunos géneros toleran la presencia de oxígeno y en bajas concentraciones de

oxígeno disuelto, las bacterias son capaces de respirar con  $Fe^{3+}$  o inclusive con oxígeno con el hidrógeno actuando como el donador de electrones.

Las industrias del petróleo, gas y marítima son seriamente afectadas por los sulfuros generados por las bacterias. La producción de sulfuro biogénico conlleva a problemas de seguridad y salud, así como problemas en el ambiente y severas pérdidas económicas debida a la transformación del medio a un medio amargo (alto contenido de azufre) provocando la corrosión de los equipos.

Desde los inicios de las investigaciones de los efectos de la bacteria sulfato reductora en la corrosión del hierro, el rol de ésta bacteria en la corrosión por picado de varios metales y sus aleaciones en ambientes acuático y terrestre bajo condiciones anóxicas y oxigenadas han sido confirmados [13]. Las bacterias sulfato reductoras también atacan las aleaciones de zinc y plomo. La corrosión en las aleaciones de zinc produce esfalerita ( $ZnS$ ), mientras que en las de plomo produce galena ( $PbS$ ).

#### BACTERIAS REDUCTORAS DE METAL

Estos microorganismos son conocidos por su carácter aerobio y por promover la corrosión del hierro y sus aleaciones llevando a la disolución de las películas de óxido resistente a la corrosión en la superficie del metal. Esto conlleva a la pérdida de las capas pasivas o en el reemplazo de éstas capas por otras menos estables que permitirán a la postre el fenómeno de corrosión en el metal.

A pesar de su amplia presencia en la naturaleza y presumible importancia en la industria, este tipo de bacterias no ha sido considerado seriamente en las reacciones de corrosión. Un gran número de bacterias, como la *Pseudomonas*, la *Shewanella* y la *Ferrimonas*, son capaces de producir la reducción de los óxidos de hierro y manganeso provocando con ello la corrosión metálica.

Ha sido demostrado que en algunos cultivos, el contacto con la superficie oxidada del hierro es suficiente para comenzar la reducción de la capa de óxido. La rapidez de reacción dependerá de la naturaleza de la capa formada [13].

#### BACTERIAS DEPOSITANTES DE METAL

Las bacterias pertenecientes a este género como las *Siderocapsa*, *Gallionella*, *Leptothrix*, etc., participan en la biotransformación de óxidos de metales como hierro y manganeso. Las bacterias depositantes de hierro, oxidan el  $Fe^{2+}$ , ya sea disuelto en el seno de la solución o precipitado en una superficie, a  $Fe^{3+}$ . Las bacterias de este género son capaces también de oxidar iones manganosos a mangánicos con la deposición simultánea de dióxido de manganeso. Esta bacteria ha sido típicamente asociada con la formación de tubérculos y consecuente ataque por picado bajo el depósito. La formación de depósitos orgánicos e inorgánicos en la superficie de óxido compromete la estabilidad de capas pasivas tan seguras como la de los aceros inoxidable. La densa acumulación de productos de las bacterias depositantes, pueden promover las reacciones de corrosión por la deposición de óxidos férricos y manganicos reactivos catódicamente, y el consumo local de oxígeno por la respiración de la bacteria. Algunas bacterias son conocidas por adherirse a los productos de corrosión y se encontrarán presentes aunque no ocupen un papel preponderante en el fenómeno corrosivo. Se ha demostrado que promueven el ennoblecimiento de los metales y corrosión por picado [13].

#### BACTERIAS PRODUCTORAS DE LAMA

Los microorganismos que producen copiosas cantidades de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) durante el crecimiento en la biopelícula han sido implicadas en el ataque localizado de aceros inoxidable. Los microorganismos formadores de lamas tales

como *Clostridium*, *Flavobacterium sp.*, *Bacillus sp.*, *Desulfovibrio sp.* etc., han sido encontrados en sitios de corrosión del inoxidable.

La protección catódica utilizada para prevenir la corrosión, incrementa la cantidad de EPS en la biopelícula. A pesar de esto, no se tiene claro el papel que desempeña éste género en el fenómeno de la corrosión, ya que se ha encontrado que posee características de pasivante de la corrosión [13]. Se han encontrado tuberías con los casos más severos de corrosión en las biopelículas más desarrolladas y por el otro lado, se ha detectado que existen otros tipos de mecanismos por los cuales se corroen los tubos de acero, como la presencia de cloruros proponiendo que la sola presencia de bacterias no influye directamente en la corrosión [13].

#### BACTERIAS PRODUCTORAS DE ÁCIDO

Algunas bacterias pueden producir copiosas cantidades de ácidos orgánicos e inorgánicos como sub-productos de su metabolismo. Las bacterias acidofílicas oxidantes de azufre oxidan formas reducidas de sulfuro a sulfato, provocando corrosión severa en los equipos sobre todo en las minas. Los ácidos acético fórmico y láctico son los productos metabólicos comunes de las bacterias de éste grupo. Algunos ejemplos de la acción de éstas bacterias se dieron cuando se expuso acero protegido catódicamente a una bacteria aerobia productora de ácido acético y sufrió corrosión severa, también depósitos protectores ricos en calcio formados durante polarización catódica, fueron desestabilizados o disueltos por el ácido acético producido [13]. Los ácidos producidos por estos microorganismos se concentran en la superficie metálica dando como resultado un pH distinto en la superficie y en el seno del electrolito que es donde generalmente se realizan las mediciones. Los valores de pH que se generan van desde 5-7 en la superficie del tubérculo, hasta 9 en las áreas catódicas adyacentes a la superficie metálica [13].

## HONGOS

Los hongos son conocidos por producir ácidos orgánicos y por lo tanto capaces de contribuir con el fenómeno de biocorrosión. Una gran cantidad de la investigación en biocorrosión se debe al ataque de los hongos sobre aluminio y sus aleaciones y han implicado la contaminación de tanques de combustibles. El metabolismo de los hongos utiliza los hidrocarburos para producir los ácidos orgánicos atacando generalmente las superficies en contacto con la fase acuosa de la mezcla agua-combustible y los sedimentos.

Las grandes cantidades de ácidos orgánicos generados por los hongos disuelven selectivamente el cobre, zinc y hierro en las fronteras de grano de las aleaciones formando picaduras que persisten bajo condiciones anaeróbicas impuestas por el crecimiento fungal. Además, el crecimiento de los hongos en los tanques de almacenaje de diesel produce grandes cantidades de biomasas las cuales provocan corrosión por "crevice" en el metal.

### 3.2.4 TÉCNICAS DE MICROSCOPIA PARA EL ESTUDIO DE LA BIOCORROSIÓN

Las formas de corrosión que pueden ser promovidas por la interacción de los microorganismos con los metales en general, incluyen corrosión por picado, corrosión por "crevice", corrosión por esfuerzos, corrosión por fatiga, ataque intergranular y daño por hidrógeno. La mayoría de casos de corrosión por microorganismos se relacionan con corrosión por picaduras.

La complejidad de las reacciones de la corrosión por bacterias necesita que, para su análisis, se aplique una amplia gama de técnicas. Además de las técnicas electroquímicas de evaluación, técnicas de microscopía, de análisis composicional y estructural [13].

Las técnicas basadas en Microscopía proveen información acerca de la morfología de las células y colonias microbianas, la distribución en la superficie, la presencia de EPS, la naturaleza de los productos de corrosión, tipo de ataque etc. Las técnicas de Microscopía



electrónica de Barrido (SEM) y Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) y Microscopía de Barrido de LASER Confocal (CLSM) han sido empleadas para el estudio de biopelículas y la biocorrosión. CLSM y AFM permiten la examinación de biopelículas hidratadas mostrando la relación de volumen entre éstas y la cepa, además de imágenes en vivo de los microorganismos. Con esta técnica se ha demostrado que entre el 75 y el 90% del volumen de la biopelícula es ocupado por la matriz dejando el resto para las células [13].

El análisis químico superficial provee información de la composición química de los productos de corrosión y depósitos microbianos. La difracción de Rayos X (XRD) y el análisis de Energía Dispersiva de Rayos X (EDAX) han sido utilizados para obtener información elemental de productos de corrosión en las superficies. La Espectroscopía Electrónica Auger (AES) permite un mapeo de los productos de corrosión. La Espectroscopía Fotoelectrónica de Rayos X (XPS) permite saber el estado de oxidación de los elementos presentes facilitando la predicción de los productos de corrosión. Aunque AES y XPS permiten la evaluación de la composición en capas delgadas, la Espectroscopía de Raman (LRS) puede ser usada para capas más gruesas. La Espectroscopía de Mossbauer permite detectar los productos de SRB [13].

La velocidad de corrosión es comúnmente determinada por métodos electroquímicos como polarización potenciodinámica, Espectroscopía de Impedancia Electroquímica, Ruido electroquímico y por supuesto por gravimetría. La utilización de Microsensores permitió la detección de la deposición de oxígeno con la formación de tubérculos y una biopelícula de 1 mm cubriendo las zonas anódicas, demostrando la existencia de concentración diferencial de oxígeno.

### 3.2.5 INHIBICIÓN DE LA CORROSIÓN POR MICROORGANISMOS

A lo largo del estudio del fenómeno de biocorrosión, se han propuesto un sinnúmero de mecanismos que tratan de explicar la manera en la que los microorganismos inducen un daño en las estructuras metálicas, aceptándose algunos de ellos debido a resultados experimentales que así lo han demostrado; sin embargo, al tratar de buscar más resultados experimentales que hagan definitiva esa hipótesis, se han encontrado con algunos tipos de microorganismos que en vez de provocar un aumento en la corrosión, producen una disminución en la misma, con lo que se abre otro camino de investigación y la pregunta ahora es: ¿De que manera pueden los microorganismos abatir el fenómeno de corrosión?

La respuesta aún no es definitiva, pero se ha avanzado a tal grado que se han encontrado un número suficiente de casos para encontrar patrones de comportamiento de los microorganismos en un medio determinado con los cuales se puede proponer mecanismos de abatimiento de la corrosión.

Los microorganismos pueden inducir a la inhibición de la corrosión de varias maneras; las mas generales se describen a continuación [15,16]:

**a) Inhibición microbiana por estabilización de una película protectora en la superficie del metal. Cambio en condiciones redox**

La corrosión anaeróbica del hierro por bacterias sulfato reductoras ha llamado la atención de la mayoría de las investigaciones. La teoría de depolarización catódica ha sido el primer intento de explicar este caso utilizando términos electroquímicos.

La actividad metabólica de las bacterias sulfato reductoras trae a la interfase metal-solución varios aniones conteniendo sulfuro de características corrosivas, ya sea como productos metabólicos finales o compuestos metabólicos intermedios. Estos compuestos son corrosivos al hierro y acero principalmente a través de la transformación a aniones sulfuro. Las características y la intensidad de la acción de sulfuros en el acero está cercanamente

relacionada a la naturaleza de la película pasiva presente en el metal. La formación de una capa de óxido usualmente facilita el rompimiento anódico de la pasividad, que podría ser considerada la primera etapa en el proceso de corrosión. El comportamiento anódico del hierro puede ser interpretado en términos de una adsorción competitiva entre agua, iones hidroxilo, y aniones de bisulfuro. Los procesos tales como formación de maquinawita, la iniciación de picadura o incluso la pasivación de la superficie metálica por una capa de óxido, dependerían de la concentración de los iones en solución. Las características fisicoquímicas del ambiente circundante a la superficie metálica son capaces de modificar los efectos de las bacterias sulfato reductoras, los cuales podrían eventualmente cambiar de la inducción de la corrosión a la inhibición. Las concentraciones relativas de sulfuros libres y hierro soluble determinarán la naturaleza química y forma física de las películas biogénicas de sulfuros. Mientras sean encontradas delgadas películas protectoras, las rupturas de éstas estimularán los procesos de corrosión. Un mecanismo de inhibición similar a la estabilización bacteriana de películas inorgánicas protectoras en la interfase metal-solución, ha sido encontrada en cobre. Como en el caso de corrosión anaeróbica del hierro, inhibición microbiana puede ser revertida a inducción de corrosión si las condiciones ambientales llevan a la producción de películas biogénicas no protectoras.

Las experiencias con películas biológicas protectoras de la corrosión han sido las más numerosas en cuanto a éste fenómeno, no solo en el acero [16,34,35] sino también en metales como cobre o aluminio [33]

**b) Neutralizando la acción de sustancias corrosivas presentes en el medio.  
Consumo metabólico.**

Uno de los mecanismos más comunes por los cuales los microorganismos pueden inducir o facilitar la corrosión es la producción de metabolitos agresivos de naturaleza ácida que garantizan la disolución anódica del metal o depolarizan la reacción catódica proveyendo de

reactantes catódicos. Entonces, cualquier actividad biológica que contrarreste directa o indirectamente esos efectos podría inhibir la corrosión, siempre y cuando se encuentre disponible un ambiente adecuado.

El principal mecanismo asociado con la inhibición de la corrosión por acción metabólica bacteriana se presenta mediante la disminución en la concentración de oxígeno por la respiración microbiana decrementando la rapidez catódica al reducir la cantidad de reactante catódico disponible para la reacción. Este efecto, asociado con la posible presencia de un metabolito protector, es sugerido para bacterias en medios salinos. Algunos resultados experimentales han demostrado que a pesar que algunos microorganismos produzcan una biopelícula completamente desarrollada, al ser retirados del medio y aún conservando la biopelícula en la superficie, la corrosión es mayor que en presencia de éstos [17, 28, 33]. Esto es un indicativo que en algunos casos la barrera difusional provocada por las biopelículas no influye tanto como el metabolismo bacteriano, ya que a pesar de experimentar con sistemas abióticos carentes de oxígeno, éstos no se comportan como con la presencia de los microorganismos [17].

Otro ejemplo de este mecanismo se relaciona con la inhibición por bacterias termofílicas, las cuales protegen el acero en medios estacionarios y de flujo, lo cual fue demostrado con datos de resistencia a la polarización que demostraron una privación casi total. La actividad protectora de la bacteria se demostró cuando se ésta se combinó para crear biopelículas mixtas con un resultado en la promoción de la corrosión.

En medios amargos, el ambiente es muy agresivo por el resultado de altas concentraciones de hidrogeno atómico en el inicio de la fractura. Biopelículas bacterianas en la región de la fractura provocarán un aletargamiento en el crecimiento de la misma debido a una disminución en el proceso de fragilización. Es asumido que los polisacáridos y demás sustancias orgánicas relacionadas con biopelículas impiden la disolución y las reacciones de

disociación así como las de adsorción. A mayor actividad biológica, mayor será la barrera contra la fragilización.

**c) Induciendo un decremento en la agresividad del medio. Cambios favorables de pH en áreas restringidas.**

El mecanismo más simple de corrosión microbiana es el cambio de un medio inerte a un medio corrosivo por la acción de microorganismos. El efecto opuesto puede ser obtenido cuando un microorganismo es capaz de producir condiciones ambientales que favorecen el comportamiento pasivo de las superficies metálicas inmersas en ese medio. Un ejemplo de inhibición de este tipo la encontramos en las gamaproteobacterias en la corrosión del aluminio y sus aleaciones en sistemas de agua-combustible.

Durante las últimas décadas la producción de petróleo, el procesamiento, el transporte y almacenaje, han sido afectados por la corrosión microbiana en su forma de hongos y bacterias. En el caso de los tanques de almacenamiento, el ataque corrosivo es generalmente localizado en el fondo o en las paredes laterales de los tanques donde una población microbiana activa es frecuentemente asociada con el agua libre. La mayor parte del estudio de este tipo de problemas se ha dedicado al aluminio.

Los microorganismos generan pequeños ecosistemas retenedores de agua, como túberculos, depósitos de lama o biopelículas. Los contaminantes químicos y el agua proveen una fuente de nitrógeno y elementos necesarios para su crecimiento. Los hidrocarburos del combustible son utilizados como fuente de carbono.

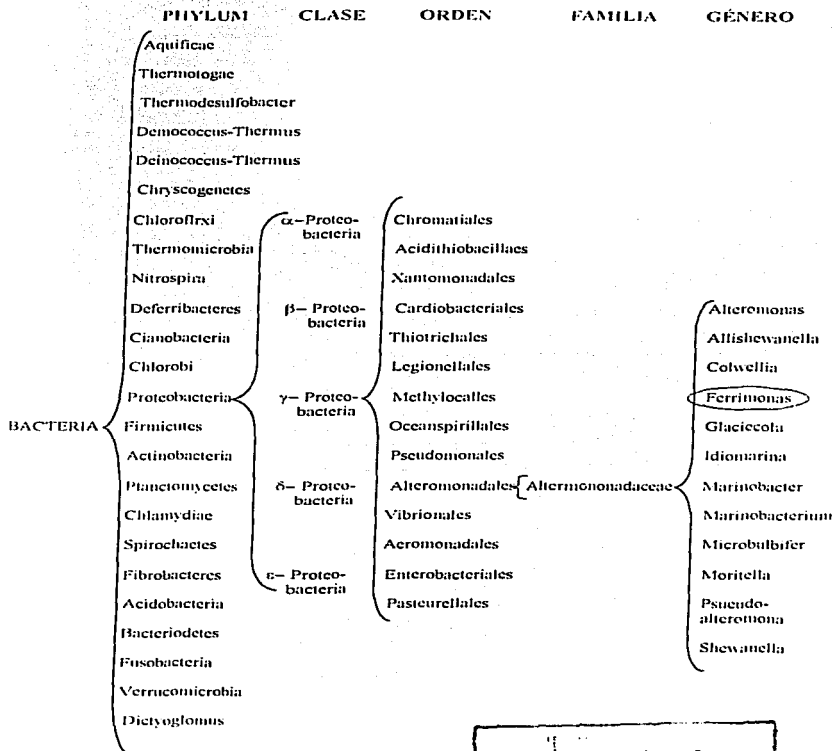
La pasividad del aluminio es generalmente condicionada por la estabilidad de la tenaz capa de óxido formada en su superficie. La ruptura de ésta capa por aniones agresivos, frecuentemente provoca fallas en las aleaciones de aluminio en ambientes acuosos llevando a corrosión por picaduras. La corrosión microbiana debida a hongos es la mayor causa de corrosión localizada en sistemas de combustible-agua. El mecanismo que induce el daño se

basa en la ruptura de la capa mediante: incrementos locales en la concentración de protón debido a la producción de ácidos orgánicos por los hongos, incremento en el potencial redox del medio, surfactantes producidos metabólicamente que provocan una pérdida de estabilidad de la capa pasiva, consumo fangal de inhibidores de corrosión como fuente de nitrógeno y puntos de fijación del micelio celular a la superficie metálica que actúan como puntos de inicio de picaduras.

Algunas especies de la familia de las bacterias gamaproteobacterias, inducen a un efecto protector en las superficies metálicas que es evidenciado por un incremento en el potencial de picado en un orden de 300 a 400 mV arriba de ese potencial. El rol de la bacteria, al parecer, se relaciona con su capacidad de cambiar el pH del medio. El rol de los cloruros en el rompimiento de la capa pasiva se lleva a cabo por los productos metabólicos derivados de la degradación de hidrocarburos. La corrosividad de estos compuestos puede ser revertida a un efecto pasivante cuando valores neutrales de pH son alcanzados en la fase acuosa. Estos valores neutrales son encontrados más frecuentemente en bacterias que en hongos. El metabolismo bacteriano induce modificaciones complejas del medio a través del consumo de oxígeno, producción de compuestos metabólicos y lisis celular. Mientras la disminución de oxígeno lleva a un decremento en la rapidez catódica favoreciendo la inhibición de la corrosión, la producción de metabolitos ácidos contrarresta la acción anterior, produciendo un incremento en la rapidez catódica neta. El grado de degradación de hidrocarburos por microorganismos es un factor importante que considerar en la inhibición de la corrosión.

3.3 ANTECEDENTES DE LA BACTERIA *Ferrimonas* sp.

3.3.1 CLASIFICACIÓN [18]



FALLA DE ORIGEN

### 3.3.2 CARACTERÍSTICAS DE LA BACTERIA *Ferrimonas* sp.

Para conocer con exactitud la clasificación de una bacteria en específico es necesario desarrollar, de acuerdo a sus características, un árbol genealógico.

La manera en que se realiza la clasificación y ubicación de las bacterias es mediante la técnica de secuencia genética 16S-rRNA, en donde se compara la información genética de cada organismo con los ya existentes y se encuentran similitudes (mayores al 99%) que se toman como parámetros de comportamiento y clasificación.

Las bacterias de la familia de la *Ferrimonas* forman parte esencial del ambiente marino en la franja mediterránea, ya sea en aguas profundas, en superficies y en sedimentos. La *Ferrimonas* se encuentra en sedimentos marinos, en la superficie de las rocas y en algunas algas. Algunas de las bacterias de ésta familia, están relacionadas con invertebrados y algas. Son bacterias aeróbicas heterotróficas quimiorganotróficas, Gram-Negativas, utilizan el oxígeno como donador de electrones, poseen un flagelo polar para la motilidad, tienen forma de barra, requieren cationes de sodio para su crecimiento, tienen un tamaño aproximado entre 0.7 y 1.0  $\mu\text{m}$ , soportan concentraciones de NaCl de hasta 9%, su temperatura óptima de desarrollo se encuentra entre los 35 y 40 °C y no presentan respuesta patológica [19,20,21,22].

Las bacterias quimiorganotróficas reductoras de Fe (III) conservan la energía como soporte para el su crecimiento acoplando la oxidación de compuestos orgánicos y/o  $\text{H}_2$  a la reducción de hierro férrico. La reducción disímil de Fe (III) puede haber sido uno de los primeros procesos significativos para la oxidación de materia orgánica a  $\text{CO}_2$ , y tiene un papel muy importante en los ambientes sedimentarios, no solo por la oxidación de materia orgánica sino también en la disolución de óxidos de hierro (III) y la formación de minerales geológicamente importantes como la magnetita y la siderita [9].



Se han encontrado bacterias reductoras de hierro en una amplia variedad de ambientes sedimentarios incluyendo los de agua fresca y agua marina, así como suelos y zonas hidrotérmicas.

A pesar de pertenecer a la misma familia, sus integrantes presentan cierta diversidad taxonómica y fenotípica. Se dividen en dos grandes categorías fisiológicas, aquellas que oxidan los compuestos de carbono completamente a  $\text{CO}_2$  y aquellos que oxidan parcialmente los compuestos de carbono a acetato. Los oxidantes a acetato incluyen a las bacterias *Shewanella* y *Ferrimonas*. Contienen sustancias celulares que ayudan en la transferencia de electrones al Fe (III).

La evidencia geológica, así como el hecho que una variedad de *Arcaea* y Bacterias hipertermofílicas tengan la habilidad de reducir Fe (III), sugiere que fue uno de las primeras formas de respiración [19,20,21,22].

### 3.4 LA TÉCNICA DE RUIDO ELECTROQUÍMICO [23,24]

Los microorganismos influyen en la corrosión cambiando las condiciones electroquímicas de la interfase metal-medio, dichos cambios van desde un cambio en el tipo de corrosión y el aumento en la velocidad global corrosiva hasta una inhibición del fenómeno. En cada caso, sin embargo, el proceso de corrosión es de naturaleza electroquímica y por lo tanto las técnicas electroquímicas siempre y cuando se apliquen correctamente, son una herramienta muy útil en la investigación de este tipo de fenómenos.

La técnica de ruido electroquímico (electrochemical noise EN) mide las fluctuaciones de potencial usualmente  $E_{cor}$ , referidas a un electrodo de referencia, o bien las fluctuaciones de corriente entre dos electrodos como función del tiempo. Aquí estriba la principal ventaja de esta técnica sobre otras ya que no es necesario aplicar una perturbación externa al sistema.

### 3.4.1 SERIES DE TIEMPO EN POTENCIAL Y CORRIENTE

El parámetro fundamental a ser medido son el potencial y corriente variando en el tiempo, a los cuales se les asigna la notación  $E(t)$  e  $I(t)$ . Esta notación se usa para enfatizar que el potencial y corriente se encuentran en el dominio del tiempo ya que también pueden estar en el dominio de la frecuencia. Se le denomina serie de tiempo a la colección de datos de potencial y corriente que son registrados en un periodo de tiempo específico. No es posible retener toda la información cuando se está registrando, por lo tanto es usual muestrear la señal continua a través de todo el tiempo que dura la serie con el fin de obtener una señal discretizada con valores espaciados idénticamente en el tiempo. El proceso de muestreo presenta varios inconvenientes, el principal de ellos se refiere a las frecuencias que pueden ser representadas, entre más puntos sean muestreados mayor serán las frecuencias que podrán ser representadas. Otra característica importante del análisis de las series de ruido son los transitorios. Se les denomina transitorios a los eventos que corresponden a un cambio de signo en la pendiente las curvas que representan los datos de ruido.

La serie de tiempo de potencial y corriente consiste de 2 partes:

- Un valor de corriente directa.
- Un ruido o variación con el tiempo de potencial o corriente, del cual el valor promedio es cero.

El valor de corriente directa es el valor promedio de la serie y se denota como  $\overline{E(t)}$  e  $\overline{I(t)}$ , donde la barra superior indica que se trata de un valor promedio.

### 3.4.2 MEDICIÓN DE RUIDO EN POTENCIAL Y CORRIENTE

Esencialmente existen dos métodos para medir el ruido en potencial:

- El potencial de un electrodo de trabajo es medido en relación a un electrodo de referencia de bajo ruido (Fig 3.12a).

- Se mide el potencial entre dos electrodos nominalmente idénticos (Fig 3.8b).

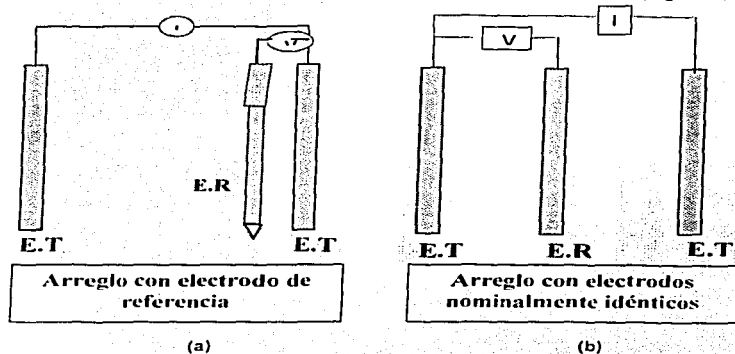


Figura 3.8 Arreglo de electrodos para prueba de ruido electroquímico

El método usado puede tener un impacto importante en los resultados de ruido obtenidos. Cuando se usa un electrodo de referencia la diferencia de potencial entre los electrodos de referencia y de trabajo es relativamente grande (menor o mayor a 100mV). La medición de pequeñas fluctuaciones a estos valores de voltaje altos suelen ser difíciles de detectar. Por otro lado, el uso de dos electrodos nominalmente idénticos provoca la pérdida de información relacionada con transitorios iniciales debidos al desarrollo de productos de corrosión, ya que los dos electrodos tienden a sufrir la misma variación en potencial.

De forma análoga al potencial existen dos formas para medir el ruido en corriente:

- La corriente que fluye a un electrodo de trabajo controlado potencioestáticamente puede ser registrada esto presenta ventajas en la interpretación, especialmente, cuando un transitorio de corriente es analizado. Debido a que el potencial es constante, una

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

pequeña o ninguna cantidad de corriente está involucrada en la carga o recarga de la capacitancia de la doble capa (algo de esa corriente llega a ser observada debido a los cambios locales de potencial causados por altas densidades de corriente en las picaduras y fenómenos semejantes). Por otro lado, el uso de un electrodo controlado potencialesticamente, impide que el ruido en potencial sea también determinado en el mismo electrodo.

- Se mide el flujo de corriente entre dos electrodos de trabajo. Este método tiene la ventaja de que el potencial de los dos electrodos alcanzará su propio nivel. Esto significa que el ruido en potencial de los electrodos de trabajo podrá ser medido al mismo tiempo que el ruido en corriente. Las desventajas de este método radican en que los cambios en potencial que son causados por el ruido en corriente, una parte de esa corriente será consumida en la carga y descarga de la capacitancia de la doble capa, por lo tanto no será posible identificar cual de los electrodos es el responsable de la generación de los eventos transitorios.

Los dos métodos tienen sus aplicaciones específicas. El primero es usado cuando se intenta estudiar transitorios de corriente de forma individual, como en estudios de iniciación de corrosión por picado. El segundo método es mejor y sólo este se puede aplicar cuando se requiere el registro simultáneo del ruido en potencial y corriente.

### 3.4.3 MEDICIÓN DE RESISTENCIA DE RUIDO ELECTROQUÍMICO

Si se miden el ruido en potencial y en corriente, es posible dividir la desviación estándar de potencial entre la desviación de corriente, el valor que se obtiene tiene unidades de resistencia (ohms), dicho valor es conocido como la resistencia de ruido electroquímico "Rn", por lo tanto, la Rn se puede determinar simplemente registrando el ruido en potencial y

corriente al mismo tiempo, es importante señalar que las mediciones tienen que ser en relación a los mismos electrodos.

### 3.4.4 PREPARACIÓN DE ELECTRODOS

Este es uno de los aspectos que se deben de cuidar más cuando se hacen mediciones de ruido electroquímico. Los requerimientos para este tipo de electrodos son similares a aquellos utilizados para las mediciones de espectroscopia de impedancia electroquímica, en los cuales es de especial importancia el evitar la formación de resquicios.

Un factor importante es la relación que existe entre el área y el proceso físico que esta ocurriendo. El picado es más común que se presente conforme el área del electrodo aumente. Este es un inconveniente cuando se usa ruido electroquímico para monitorear estructuras que se encuentran en servicio, donde el área de la estructura es inevitablemente mayor que el área de la sección monitoreada, por lo tanto es probable que se presenten picaduras en alguna parte de la estructura pero no en la sección monitoreada.

Otro factor importante a tomarse en cuenta es la preparación de la superficies, ya que los procesos de corrosión localizada se facilitan en superficies rugosas, debido a esto es importante contar con probetas pulidas ya que el pulido elimina los sitios de nucleación de picaduras. Es importante verificar y tratar de eliminar la presencia de algún depósito en la superficie, por ejemplo polvo el cual actúa como una barrera difusional y auxilia la formación de picaduras metaestables. Los depósitos biológicos son mucho más agresivos debido a diversas razones entre las que se destacan la formación de celdas de aireación diferencial y la formación de sustancias como el  $H_2S$  producido por las bacterias sulfato-reductoras.

Probablemente el aspecto más importante junto con la preparación de superficie es evitar la formación de resquicios. Un electrodo ideal para esta prueba sería una esfera suspendida en el electrolito sin otro tipo de contacto, en la práctica esto es imposible y suelen usarse

materiales aislantes para sujetar el electrodo lo cual puede dar lugar a formación de resquicios en la junta electrodo-aislante.

### **3.4.5 SELECCIÓN DE LA FRECUENCIA DE MUESTREO Y LA DURACIÓN DE LA SERIE DE TIEMPO**

La frecuencia de muestreo depende de los procesos que están generando el ruido así como también del análisis que será utilizado, siendo más importante cuando se hará un análisis en el dominio de la frecuencia. Una frecuencia de muestreo lenta requiere el uso de un filtro que limpie la señal de ruido. Existen dos escuelas con prácticas diferentes respecto a la frecuencia de muestreo. Una acostumbra usar una frecuencia de 1Hz (la cual es fácil de alcanzar por los voltímetros digitales). La otra (basada en investigadores europeos) considera importante muestrear a frecuencias entre 10-30Hz lo cuál es muy complicado de lograr pero facilita la limpieza de los datos de ruido.

La duración de las series de tiempo está afectada por la capacidad para almacenar los datos. Por conveniencia las series de tiempo tienen una duración de pocos minutos donde el número de puntos tomados por serie varía entre los 1024 y 4096 (se recomienda un muestreo de valores en potencias de 2 si se utilizará la transformada rápida de Fourier [23]). Se recomienda que se registren series de tiempo de forma continua con el fin de permitir un análisis a bajas frecuencias.

### **3.4.6 ANÁLISIS DE RUIDO ELECTROQUÍMICO**

#### **3.4.6.1 ANÁLISIS EN DIFERENTES DOMINIOS**

Como anteriormente se había mencionado, el potencial y la corriente pueden analizarse en el dominio del tiempo y en el de la frecuencia así como también en el dominio de Laplace; la metodología ideal sería realizar el análisis en varios dominios. Todas son revisiones

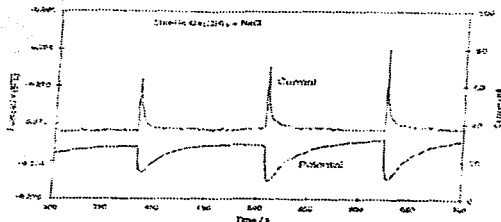
equivalentes de la misma información con diferentes enfoques las cuales presentan diferentes ventajas en el análisis de datos:

- En el dominio del tiempo se consideran las fluctuaciones instantáneas del potencial o corriente como función del tiempo, esta es la forma en la cual las señales son registradas por lo que es la forma más natural de analizar los datos.
- El dominio de la frecuencia examina las señales en términos de la potencia presente a varias frecuencias. Un potencial en el dominio del tiempo varía como función del tiempo, la misma señal en el dominio de la frecuencia variará en función de ésta y tendrá fase y amplitud a cada frecuencia. El análisis de circuitos eléctricos se facilita en el dominio de la frecuencia.
- El dominio de Laplace (s) puede ser referido como una extensión del dominio de la frecuencia, es el más usado en el análisis de circuitos eléctricos debido a que permite un tratamiento de elementos pasivos y activos, sin embargo, es el menos usado para analizar los datos de ruido.

#### 3.4.6.2 ANÁLISIS DE LAS SERIES DE TIEMPO

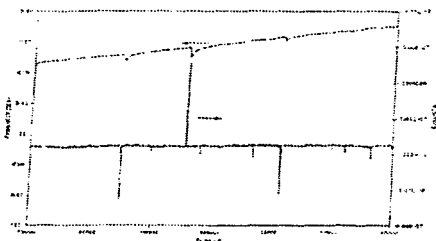
El entendimiento del surgimiento de los transitorios es útil para determinar si la corriente el potencial es el parámetro controlante. En la mayoría de los casos la corriente es la controlante y el potencial es sólo una respuesta del total del electrodo a corrientes locales de corrosión. La corrosión por picado es por lo tanto asociada a transitorios en corriente, que aparecen cuando una picadura nuclea, crece y desaparece. En el caso de aceros, el transitorio de corriente muestra un rápido incremento seguido por un lento decaimiento conforme la picadura se repasiva; la corriente de la picadura es drenada del capacitor de la capa pasiva, provocando que el potencial decaiga en el período del transitorio de corriente y

de ahí crece (más lento que el decaimiento de corriente) a la par que la capa pasiva se recarga debido a la reacción catódica (Fig 3.9).



**Figura 3.9** Transitorios en donde se observa un aumento repentino en la señal seguido de un decremento asociado a la pasivación en una picadura. [23]

En el caso de aceros inoxidables la forma de los transitorios es diferente, el incremento y decremento de corriente se da aproximadamente a la misma velocidad. El área incluida bajo un transitorio (tiempo por corriente) puede servir para determinar la carga implicada en la reacción y por lo tanto el volumen de material perdido en la picadura (Fig 3.10).



**Figura 3.10** Trasitorios en acero que no muestran pasivación. [23]

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Cambios lentos en el potencial pueden ser asociados con el inicio de corrosión localizada, por ejemplo el inicio de corrosión por resquicios causará que el potencial caiga, a la par que el resquicio manda el potencial del cátodo a valores más bajos.

#### 3.4.6.3 MÉTODOS ESTADÍSTICOS PARA EL ANÁLISIS DE LAS SERIES DE TIEMPO

Los métodos estadísticos más simples tratan la corriente como una colección de elementos de potencial o corriente e ignoran la relación entre un valor y el siguiente. En este caso la serie de tiempo se define por completo usando sus valores de distribución. Sin embargo, es poco común encontrar las gráficas de distribución para señales de ruido electroquímico y en vez de eso suelen usar parámetros estadísticos de distribución. Los más importantes se enuncian a continuación:

**Promedio.-** es el potencial promedio y las fluctuaciones de este a través de diversas series de tiempo se relacionan con cambios en los procesos de corrosión que ocurren. Se espera que el promedio de corriente sea cero cuando se utilizan electrodos nominalmente idénticos.

**Varianza.-** es una medida de la potencia en corriente alterna de la señal y es referida como la potencia de ruido. Se espera que la varianza de la corriente se incremente de forma directa con el aumento en la velocidad de corrosión y la ocurrencia de procesos de corrosión localizada. En contraste la varianza del potencial disminuye con el aumento de la velocidad de corrosión y aumenta con la incidencia de corrosión localizada.

**Desviación estándar.-** es la raíz cuadrada de la varianza, como tiene unidades de A y V es más intuitiva su interpretación, la cual es igual a la de la varianza respecto a los procesos de corrosión.

**Raíz cuadrada del promedio de valores elevado al cuadrado (RMS).-** como su nombre lo indica es un valor promedio de potencial y corriente, donde se elevan al cuadrado todos los elementos de la serie para eliminar diferencias de signo y evitar que el promedio sea cero.

**Sesgo.**- es una medida de la simetría de la distribución de datos, un valor de cero implica una distribución normal y simétrica sobre la media. Un valor negativo implica que la distribución esta cargada a la izquierda y un sesgo positivo implica una distribución cargada hacia la derecha.

**Curtosis.**- es una medida de la forma de la distribución comparada con una distribución normal, una curtosis de cero implica distribución normal. Cuando se tiene una curtosis positiva indica una distribución más puntaguda y una curtosis negativa implica una distribución aplanada. Para el caso de la curtosis y el sesgo, es importante remover la tendencia de los datos para así tener valor con mayor validez.

**Resistencia de ruido ( $R_n$ ).**- la resistencia de ruido electroquímico se obtiene del cociente entre la desviación de potencial y la desviación de corriente. Por años se ha discutido su validez y su equivalencia con la resistencia de polarización, dichos valores coinciden en comportamiento, por lo que al menos de forma cualitativa se puede utilizar la resistencia de ruido. La  $R_n$  es quizá el parámetro obtenido del análisis en el dominio del tiempo mejor establecido, aunque sólo da información útil respecto a procesos de corrosión uniforme. La  $R_n$  es más fácil de medir que la  $R_p$  cuando se trata de sistemas altamente resistivos, pero el resultado no es tan certero como el obtenido de la técnica de resistencia de polarización lineal.

#### 3.4.6.4 APLICACIONES GENERALES A LA CORROSIÓN

Son variadas las aportaciones al estudio de la corrosión, entre ellas la utilización de la  $R_n$ , sin embargo la principal aplicación se da en torno al estudio de la corrosión localizada. El ruido electroquímico se proyecta como el mejor método para identificar y monitorear corrosión localizada, además de la facilidad de realizar pruebas en campo en comparación

con la espectroscopia de impedancia electroquímica, además de que no es indispensable el uso de electrodos de referencia en comparación con otras técnicas electroquímicas.

**Parámetro o índice de localización (LI).**- se define como la desviación de la corriente dividida entre la RMS de corriente adquiriendo valores entre cero y uno. Ha sido propuesto en la literatura que el LI puede ser usado para determinar la naturaleza del mecanismo de corrosión que prevalece en un sistema, siendo los valores cercanos a uno característicos de corrosión localizada y los valores cercanos a cero propios de corrosión uniforme. Aunque es dudoso que un simple índice derivado de un análisis estadístico puede identificar un mecanismo de corrosión, una variedad de resultados presentados en la literatura soportan la idea de la utilidad del LI para determinar el tipo de corrosión predominante.

En la figura 3.11 se presentan las ecuaciones de los métodos estadísticos para el análisis de las series de tiempo [23].

<b>Media:</b>	
$\bar{x} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i$	
<b>Desviación estándar:</b>	<b>Índice de localización:</b>
$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}$	$LI = \frac{\sigma I}{rmsI}$
<b>Raíz cuadrada de la media:</b>	<b>Resistencia de ruido:</b>
$rms = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i^2}$	$R_n = \frac{\sigma I'}{\sigma I}$
<b>Curtosis</b>	<b>Sesgo:</b>
$K = \frac{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^4}{\sigma^4}$	$S = \frac{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^3}{\sigma^3}$

Figura 3.11 Ecuaciones para calcular los parámetros estadísticos en la señal de Ruido Electroquímico.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Como ejemplo de aplicaciones de ruido electroquímico en estudios de corrosión, se destaca el trabajo hecho por investigadores del instituto de ciencia y tecnología de Manchester (UMIST), donde se utilizó ruido para estudiar el efecto de bacterias sulfato-reductoras y otras comunidades de microorganismos en la corrosión de acero de refuerzo en concreto. Se realizó un monitoreo a lo largo de 218 días, y el registro de potencial mostró eventos que se relacionaron con rupturas de la capa pasivante y repasivación [25]. Por otro lado, King al interpretar los resultados que obtuvo de mediciones de ruido en tuberías de acero con bacterias presentes, demostró que las fluctuaciones se debieron a la formación de algún tipo de películas y la ruptura de éstas [25]. También ha sido demostrada la relación entre las fluctuaciones de potencial debidas al rompimiento de películas de sulfuro de hierro producidas por bacterias sulfato reductoras. En el caso de aluminio en sistemas naturales también se ha usado ruido, para estudiar la aparición de procesos de corrosión localizada. Debido a la estrecha relación que existe entre el picado de metales y los efectos de los microorganismos cuando se adhieren a las superficies, la técnica de ruido electroquímico jugará en el futuro un papel central en el estudio de la corrosión microbiológicamente inducida.

**PROCEDIMIENTO  
EXPERIMENTAL**

---

Se desarrolló un diseño de experimentos basado en el tiempo de crecimiento de la bacteria. Esto es importante porque dicta la cantidad de reactivos, el número y espaciamiento de las tomas de muestra, el número de siembras por cada toma y el número de diluciones en cada toma.

El desarrollo experimental se divide en tres partes:

- Material y Equipos
- Preparación de la prueba
- Ejecución de la prueba

## **4.1 MATERIAL Y EQUIPOS**

### **4.1.1 MATERIAL**

- Asa de cultivo
- 250 cajas de Petri.
- Mechero
- Cilindros maquinados de acero API X52
- Resina poliéster
- Tubos de acrílico de ½ in y de PVC de ¼ in
- Alambre estañado calibre 20
- Vidrio de reloj.
- Espátula.
- Vaso de precipitados de 1 L
- Parrilla con agitador magnético
- Termómetro
- 250 tubos de cultivo con tapa roscada.
- 2 matraces de 5 bocas de 1 L.
- Tapones para matraz de 5 bocas.
- Micropipeta de 1000 µL
- Puntas para micropipeta.
- Balanza analítica

- Matraz aforado de 1 L.
- Cámara Neubauer para el conteo de bacterias
- Alcohol etílico
- Algodón
- Gasas estériles
- Guantes de Latex estériles

#### 4.1.2 EQUIPOS

- Autoclave All American, modelo 1925X.
- Microscopio Óptico MEIJI Techno modelo TM400 series
- Potenciostatos ACM Instruments modelos Gill AC seriales 802 y 844
- Incubadora Lab-line Instruments Inc. modelo V.I.P.CO<sub>2</sub> Incubator 417

#### 4.1.3 SOFTWARE

- Adquisidor de datos Core Running versión 4.2.9 ACM Instruments 2000
- Analizador de datos v4 Analysis versión 4.2.3.0 ACM Instruments 2000
- Secuenciador Parallel 4 versión 4.2.9 ACM Instruments 2001
- Secuenciador versión 4.2.9 ACM Instruments 2001

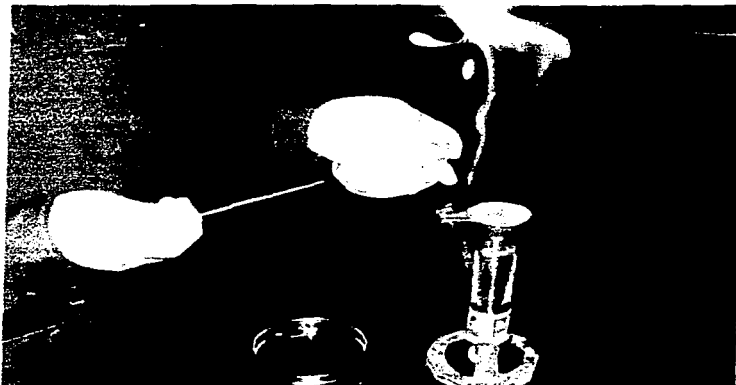
## 4.2 PREPARACIÓN DE LA PRUEBA

La preparación de la prueba involucró la resiembra de la bacteria, la elaboración de probetas, del medio de cultivo y agua de dilución así como también la esterilización de los mismos.

### 4.2.1 RESIEMBRA DE LA CEPA

Para garantizar que se contaba con la cepa de interés, evitar contaminación por algún otro microorganismo y mantenerla fresca, fue necesario realizar las resiembras como sigue:

- Se tomó una cepa que contenía la bacteria de estudio.
- Se creó un ambiente estéril empleando una flama y trabajando siempre a menos de 25 cm de la misma.
- Se prepararon varias cajas de Petri con medio de cultivo (agar) y se esperó que solidificara.
- Se identificó el microorganismo de interés.
- Con el asa de cultivo se recogieron algunas colonias del microorganismo (fig 4.1)



**Figura 4.1 Toma de colonias para siembra de la cepa original.**

- Se esparcieron las colonias tomadas en un medio de cultivo fresco en un movimiento de zig-zag (método de estría cruzada).
- Se incubó durante 48 horas y se observó el tipo de colonias que crecen.
- Se realizó el mismo procedimiento hasta garantizar la pureza de la cepa cuando se observó físicamente como la figura 4.2.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



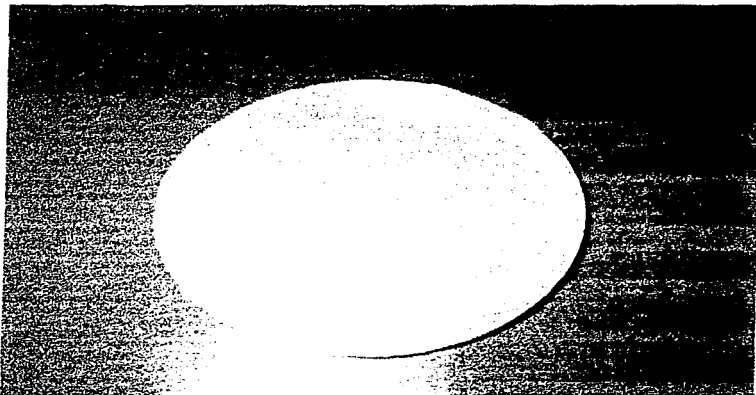


Figura 4.2 Cepa de Ferimonas en cultivo puro

#### 4.2.2 PREPARACIÓN DE LAS PROBETAS

El material para las probetas fue acero API X52 previamente maquinado.

La preparación de las probetas se realizó en un arreglo de tres electrodos nominalmente idénticos embebidos en resina poliéster como se indica a continuación:

- Se partió de cilindros metálicos maquinados a partir de una tubería constituida de acero designación API 5L X-52 [30], con las dimensiones mostradas en la figura 4.3

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

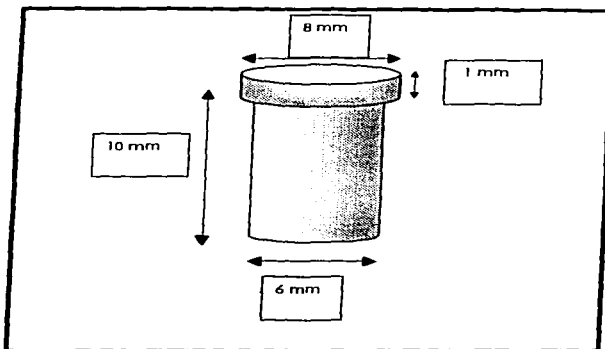


Figura 4.3. Forma y dimensiones de pieza maquinada de acero API X52

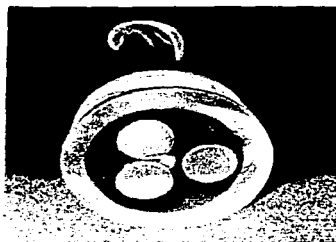
- Tres de estos cilindros se introdujeron en un revolver hecho de plástico. El maquinado de cada cilindro sirve para sujetarlo dentro del revolver con ayuda de un cable previamente cortado (de 40cm de longitud) con el aislante retirado de la terminal que estará en contacto con el cilindro. El cable superpuesto en la pared lateral del cilindro, es sostenido hasta lograr pasar por completo el cilindro a través del revolver, el espesor de estos dos elementos (cable y cilindro) debe ser mayor al del orificio del revolver para que éstos queden fijos debido a la presión.
- Una vez colocados los tres cilindros dentro del revolver, el conjunto se colocó dentro de un molde con las cabezas de los cilindros hacia abajo y por la parte superior del molde se introdujo una varilla (plástica o de vidrio) hasta quedar a tope con la parte superior del revolver.
- Una vez ajustada la varilla en forma perpendicular con el revolver, se vaciaron 15 mL de resina epóxica (previamente preparada) sobre el molde y se espera hasta que ésta solidifique. Una vez endurecida la resina la probeta se retira del molde y se procede a desbaste con lijas 240,320, 400 y 600 y pulido con alúmina de tamaños 1.0 y 0.3.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

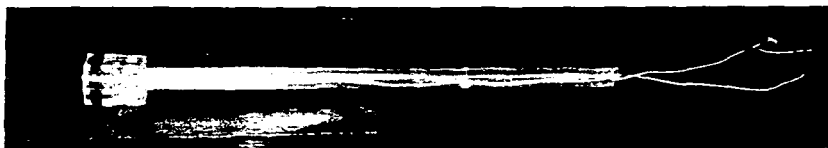
- La superficie expuesta de los tres cilindros o electrodos debe tener acabado espejo. En una superficie pulida es más difícil que se presente la aparición de picaduras en la superficie metálica, además con el pulido se eliminan los defectos superficiales macroscópicos donde se pudieran nuclear dichas picaduras. Más importante aún es el hecho que se disminuye la rugosidad de la superficie metálica, eliminándose micro-sitios de estancamiento de solución (nutrientes) y en consecuencia posibles sitios de desarrollo bacteriano.
- Si se realiza una buena limpieza y manipulación, las probetas se pueden utilizar de forma efectiva en ensayos donde se quieren mantener condiciones de esterilidad. El resultado final se muestra en las figuras 4.4a, 4.4b y 4.4c .



(a)



(b)



(c)

Figura 4.4. Probeta con arreglo de tres electrodos nominalmente idénticos en: (a) y (c) vista lateral, (b) vista de frente.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## 4.2.3 PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO Y AGUA DE DILUCIÓN

Se desarrolló un diseño de experimentos basado en el tiempo de crecimiento de la bacteria observado con anterioridad, el cual era de 96 horas.

Debido a que el crecimiento de la bacteria era relativamente lento, se propusieron 20 tomas de muestra, espaciadas en las 96 horas haciendo diluciones no mayores de  $10^{-12}$  para tener un registro cercano del crecimiento (tabla 4.1).

TOMA	HORAS	DILUCIONES	SIEMBRAS
1	0	$10^{-1} \cdot 10^{-3}$	$10^{-1} \cdot 10^{-3}$
2	3	$10^{-1} \cdot 10^{-3}$	$10^{-1} \cdot 10^{-3}$
3	6	$10^{-1} \cdot 10^{-3}$	$10^{-1} \cdot 10^{-3}$
4	9	$10^{-1} \cdot 10^{-4}$	$10^{-1} \cdot 10^{-4}$
5	12	$10^{-1} \cdot 10^{-4}$	$10^{-1} \cdot 10^{-4}$
6	15	$10^{-1} \cdot 10^{-4}$	$10^{-2} \cdot 10^{-4}$
7	18	$10^{-1} \cdot 10^{-4}$	$10^{-2} \cdot 10^{-4}$
8	21	$10^{-1} \cdot 10^{-5}$	$10^{-2} \cdot 10^{-5}$
9	24	$10^{-1} \cdot 10^{-5}$	$10^{-2} \cdot 10^{-5}$
10	41	$10^{-1} \cdot 10^{-5}$	$10^{-3} \cdot 10^{-5}$
11	43	$10^{-1} \cdot 10^{-6}$	$10^{-3} \cdot 10^{-6}$
12	46	$10^{-1} \cdot 10^{-6}$	$10^{-3} \cdot 10^{-6}$
13	49	$10^{-1} \cdot 10^{-7}$	$10^{-4} \cdot 10^{-7}$
14	64	$10^{-1} \cdot 10^{-8}$	$10^{-5} \cdot 10^{-8}$
15	67	$10^{-1} \cdot 10^{-8}$	$10^{-5} \cdot 10^{-8}$
16	70	$10^{-1} \cdot 10^{-9}$	$10^{-6} \cdot 10^{-9}$
17	73	$10^{-1} \cdot 10^{-10}$	$10^{-7} \cdot 10^{-10}$
18	88	$10^{-1} \cdot 10^{-11}$	$10^{-8} \cdot 10^{-11}$
19	90	$10^{-1} \cdot 10^{-12}$	$10^{-8} \cdot 10^{-12}$
20	93	$10^{-1} \cdot 10^{-12}$	$10^{-8} \cdot 10^{-12}$

Tabla 4.1 Secuencia de diluciones y siembras planeadas para cada toma de muestra.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En base a las tomas de muestra y a la cantidad de diluciones planeada, se calcula el número de tubos de medio de cultivo y de agua de dilución. De la tabla, se observó que son necesarios de 3 a 4 tubos de medio de cultivo por cada toma y un promedio de 6 tubos de agua de dilución por toma, además es necesario un factor de confianza por aquellos tubos que puedan fallar o se puedan romper, por lo tanto el material necesario se muestra en la tabla 4.2

SOLUCIÓN	CANTIDAD TUBOS
MEDIO DE CULTIVO	100
AGUA DE DILUCIÓN	160
PUNTAS MICROPIPETA	180

Tabla 4.2 Cantidad total de soluciones para las siembras.

#### PREPARACIÓN MEDIO DE CULTIVO

El medio de cultivo es un medio sólido de agar (ver Apéndice) cuya preparación se lleva a cabo de la siguiente manera

Para preparar 1 L de medio de cultivo

- Se pesaron los reactivos
- Se mezclaron y colocaron en una parrilla con agitador magnético.
- Se calentaron sin dejar de agitar hasta que no hubo sólidos visibles en la solución. (aproximadamente 30 minutos a una temperatura entre 70 y 80 °C)
- Sin esperar que la solución se enfriara, se agregaron entre 13 y 15 mL de ésta a cada tubo de cultivo.
- Se taparon perfectamente todos los tubos que se prepararon

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**PREPARACIÓN DEL AGUA DE DILUCIÓN**

El agua de dilución servirá para reducir la concentración de microorganismos para poder realizar el conteo total en placa.

- Se prepararon 1.5 L de solución de NaCl al 0.85% en peso
- Una vez preparada la solución, se agregaron 9 mL de ésta a cada tubo de cultivo
- Se taparon perfectamente todos los tubos.

**4.2.4 ESTERILIZACIÓN**

Una vez que se contaba con las probetas, los tubos con medio de cultivo y los de agua de dilución, se introdujeron junto con las puntas de plástico de la micropipeta en el autoclave, sometiendo el material a una temperatura de 121°C y una presión de 15 psi durante 15 minutos.

**4.3 EJECUCIÓN DE LA PRUEBA**

La ejecución de la prueba involucra la preparación del caldo nutritivo, la programación de la técnica electroquímica, la toma de muestras y el conteo de las colonias bacterianas.

**4.3.1 PREPARACIÓN DEL CALDO NUTRITIVO**

El caldo nutritivo se preparó de la misma manera que el medio de cultivo, solamente cambian los reactivos o simplemente es el medio de cultivo sin agar.

- Para preparar 1 L de caldo nutritivo
- Se pesaron los reactivos
- Se mezclaron
- Se calentaron y agitaron a 70°C durante 30 minutos
- Se vaciaron en un matraz de cinco bocas
- Se tapó perfectamente

- Se esterilizó el matraz en el autoclave a  $121^{\circ}\text{C}$  y 15 psi durante 15 minutos.

#### 4.3.2 ACOPLAMIENTO DEL SISTEMA BIOLÓGICO

- Se creó un ambiente estéril empleando una flama trabajando siempre a menos de 25 cm de la misma.
- Una vez que se tuvo el caldo nutritivo estéril, se introdujo la probeta en el matraz (fig 4.5)

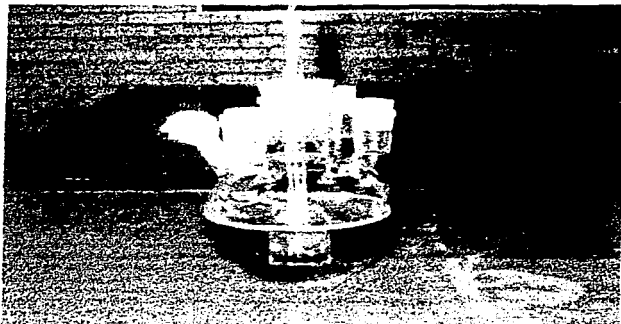


Figura 4.5 Bio-reactor ensamblado

- Se introdujeron pequeños cilindros del metal a estudiar exponiendo solamente una cara al medio. Estos cilindros no son electrodos, simplemente se exponen para sufrir el daño superficial para pruebas de rayos X y microscopía.
- Se tomó la cepa con el microorganismo de interés aislado y se vertió un tubo con agua de dilución.
- Se agitó ligeramente la caja de de cultivo para desprender las colonias y agregarlas al medio acuoso.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

- Se tomó una muestra (aproximadamente 0.1 ml) del lavado en caja y se colocó en una cámara Neubauer.
- Se observó al microscopio y se contó el número de bacterias en la cámara multiplicándolo por un factor de 6.25E6 para saber el número de bacterias por mL.
- El número de bacterias obtenido se extrapola al volumen del matraz para saber exactamente cuantas bacterias se tienen en total como población inicial en el medio de cultivo.
- Basándose en ese número, se tomó una muestra del lavado en caja y se inoculó el medio de cultivo.
- Se agitó ligeramente para homogeneizar y se montó en el dispositivo para las pruebas electroquímicas.
- Es extremadamente importante el realizar todas las operaciones dentro del ambiente estéril hasta que el matraz se encuentre perfectamente cerrado.
- Se conectaron los tres electrodos nominalmente idénticos.
- Se programó el equipo para abarcar exactamente el mismo tiempo de acuerdo al tiempo de monitoreo de la actividad bacteriana.

#### 4.3.3 ACOPLAMIENTO DEL SISTEMA TÉRMICO

Debido a la sensibilidad de la señal de Ruido Electroquímico, se diseñó un dispositivo para mantener el sistema fuera de corrientes vagabundas que pudieran alterar las mediciones ya fuera por las líneas de carga o por algún equipo electrónico cercano al sistema. Además, era necesario que se mantuviera la temperatura óptima de crecimiento de la bacteria (30-35°C). Esto se logró con la construcción de una jaula de Faraday conectada a tierra física, la jaula tenía acoplado un sistema de recirculación de agua, ya que, al no poder utilizar ningún medio eléctrico para mantener el agua a la temperatura deseada (resistencias o baños eléctricos), ésta se controlaba en un baño eléctrico alejado del sistema y el agua era bombeada hacia el interior del sistema. Este dispositivo debía mantener la temperatura dentro del matraz en un intervalo de 32-34°C durante todo el tiempo de experimentación. (Figuras 4.6 y 4.7)



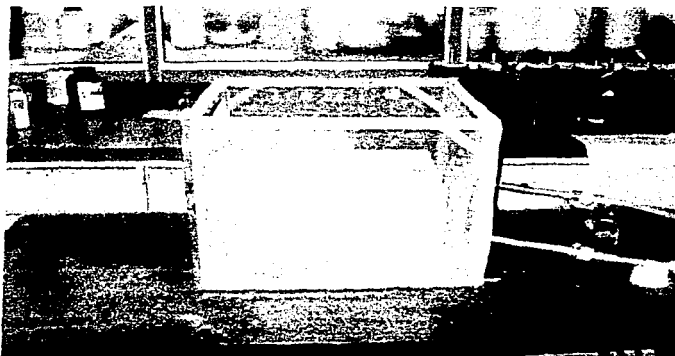


Figura 4.6 Sistema de calefacción acoplado con jaula de Faraday.

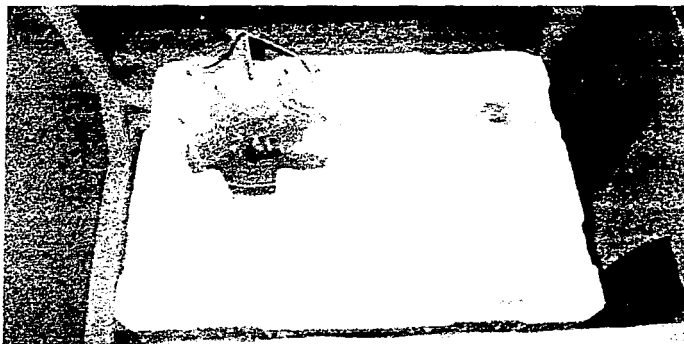


Figura 4.7 Bio-reactor acoplado al sistema térmico por recirculación de agua.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Se realizaron también pruebas para ver el efecto de la bomba en el sistema: se comenzaba una prueba de ruido electroquímico y durante ésta, la bomba era desconectada y encendida de nuevo y se observaban los cambios en la señal.

#### 4.3.4 TOMA DE MUESTRAS, DILUCIONES Y SIEMBRAS

- Periódicamente, en intervalos de tiempo programados, se acercó la flama al bio-reactor y se tomó una muestra de 1 ml
- Se trasvasó la muestra a un tubo con 9 mL de solución salina estéril como se demuestra en la figura 4.8, obteniendo la primera dilución 1:10 ( $10^{-1}$ )

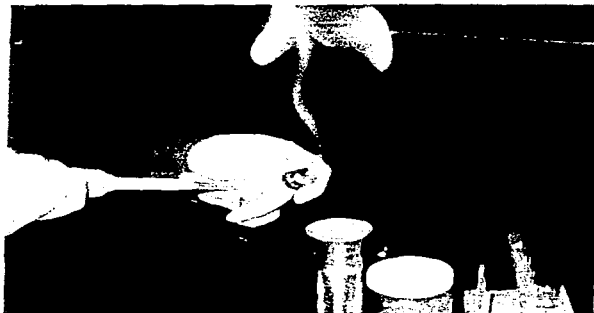


Figura 4.8 Diluciones después de toma de muestra.

- Una vez que se tenía la primera dilución, se realizaron las demás como se tenía planeado (tabla 4.1). Para realizar las diluciones posteriores y las siembras en caja se partió de la dilución obtenida anteriormente y se procedió de la siguiente manera: Se tomó 1 mL de la dilución  $10^{-1}$  y se agregó a otro tubo con 9 mL de solución salina, se homogeniza y se realiza el mismo tratamiento para el siguiente tubo hasta alcanzar las diluciones propuestas para cada toma en la tabla 4.1. Las siembras en

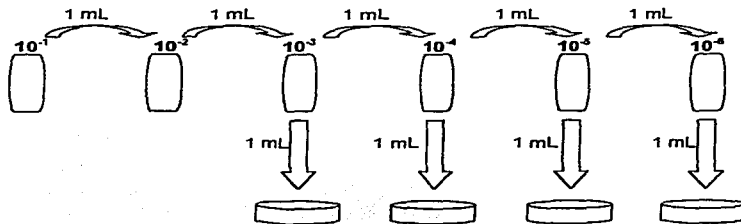
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

caja (figura 4.9) se realizaron al mismo tiempo de las diluciones apegándose a la tabla 4.1.



Figura 4.9 Siembra en caja de Petri

Para entender mejor el mecanismo de diluciones y siembras que se utilizó, se recurre al siguiente esquema que corresponde a la toma 12 a las 46 horas de iniciada la prueba. De la tabla 4.1 se observa que se realizan diluciones de hasta  $10^{-6}$ , pero solamente se siembra en caja de  $10^{-3}$ - $10^{-6}$ .



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

- Se calentaron los tubos de agar hasta hacer líquido el contenido, se enfriaron hasta 40°C y vaciaron en las cajas con siembras procurando mantenerse siempre cerca de la zona estéril de la flama del mechero.
- Se agitó cada caja durante 30 segundos y se esperó que solidificara para voltearla y prepararla para la incubación durante 48 horas.
- Al término de la prueba, se sacó el matraz del dispositivo y se retiraron los cilindros para exámenes de microscopía.
- Se esterilizó el matraz con el medio para eliminar la presencia de microorganismos.
- Se realizaron los análisis de Microscopía Electrónica de Barrido para analizar las biopelículas formadas y el tipo de corrosión en el acero.

#### **4.3.5 CONTEO TOTAL EN PLACA**

Al transcurrir 48 horas para cada toma, se sacaron las cajas de la incubadora y se contó el número de colonias en todas las cajas. La técnica para el conteo bacteriano es multiplicar el número contado en cada caja por el factor de dilución de esa toma (el valor positivo del exponente de dilución) y promediar todas las cajas de la misma toma para obtener el número total de microorganismos a un tiempo dado y construir de esta manera la curva de crecimiento.

**RESULTADOS  
Y ANÁLISIS DE  
RESULTADOS**

---

Todas las pruebas se realizaron por duplicado y siempre se utilizó un blanco o testigo sin bacterias.

En las primeras pruebas, se presentaron casos severos de contaminación en ambos medios, con y sin bacterias. Para determinar las causas de la contaminación, se colocaron en medio de cultivo el agua de dilución, puntas de micropipeta, y caldo nutritivo, todos esterilizados, y se incubaron por 48 horas. Además, también se incubó medio de cultivo esterilizado.

En ningún caso se presentó contaminación, por lo que se determinó que la fuente de contaminación eran las probetas, por lo que se cambiaron los materiales de las mismas y se esterilizaron al mismo tiempo que el caldo nutritivo.

Para evitar que los cilindros de acero de las probetas se oxidaran al esterilizarlas, se introdujo toda la probeta en un recipiente cerrado con una porción de granalla de zinc.

Después de esterilizar las probetas, se eliminó por completo la contaminación del medio.

El dispositivo diseñado para mantener el sistema fuera de corrientes vagabundas que pudieran alterar las mediciones funcionó adecuadamente ya que al realizar las pruebas para ver el efecto de la bomba en el sistema, éste no mostraba alteraciones considerables ya que las perturbaciones provocadas por el ensayo eran mucho menores que los transitorios provocados habitualmente en el medio. Además, este dispositivo mantuvo la temperatura dentro del matraz en un intervalo de 32-34°C durante todo el tiempo de experimentación.

### 5.1 CURVA DE CRECIMIENTO

Se seleccionó una de las cepas de *Ferimonas* y agregó a 9 mL de agua de dilución para realizar el lavado y tomar una muestra para el conteo de bacterias. Al realizar el conteo al microscopio con la cámara Neubauer se encontraron en promedio  $2.5 \cdot 10^8$  bacterias/mL.

Tomando como base este número, se realizaron diluciones para inocular una cantidad de bacterias conocidas para un volumen de caldo nutritivo de 500 mL.

El número de bacterias en el matraz originalmente fue aproximado a 7 mil, y se mantuvo igual en las demás pruebas mediante el mismo procedimiento.

Una vez inoculado uno de los matraces, se introdujeron ambos al sistema de calefacción y se conectaron a los equipos para las mediciones de Ruido Electroquímico.

Se realizó la toma de muestras como lo indica el procedimiento experimental, se realizaron las siembras y se les agregó medio de cultivo.

Al término del tiempo estipulado, se realizó el conteo total en placa.

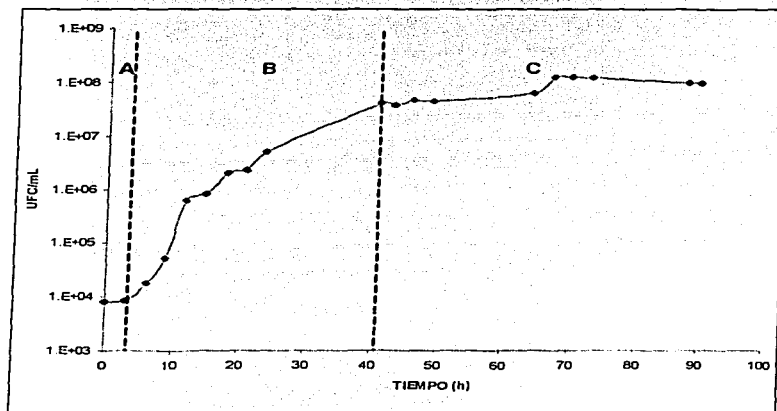


Figura 5.1 Curva de crecimiento bacteria *Ferrimonas sp*

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En la figura 5.1, se pueden distinguir tres zonas en la curva de crecimiento las cuales están señaladas como A, B y C

En la zona A se puede apreciar un corto periodo de adaptación de la bacteria (aproximadamente 3 horas). Este hecho nos indica que el medio en el que se encuentra es propicio para su desarrollo.

En la zona B de la gráfica, se observa la fase de crecimiento de la bacteria y se distinguen dos velocidades de crecimiento. La primera parte del crecimiento es totalmente de manera exponencial incrementándose la población bacteriana en dos órdenes de magnitud en tan solo 6 horas, lo cual coincide también con la rapidez de adaptación de la bacteria. La segunda parte del crecimiento es menos pronunciada y parece ser una transición entre las fases de crecimiento y estacionaria, sin embargo todavía es notoria la reproducción bacteriana.

La zona C en la gráfica es la fase estacionaria de la bacteria, aquí no se observa crecimiento ni decrecimiento y se tiene el mismo número de reproducciones y decesos.

A pesar que se pensaba en una curva completa en los 4 días de monitoreo, no se llegó a la zona de muerte celular, sin embargo, por las características de las zonas anteriores, se esperaba que se diera inmediatamente después de terminado el monitoreo. De cualquier manera, las zonas más importantes del desarrollo bacteriano fueron monitoreadas.

## **5.2 PRUEBAS ELECTROQUÍMICAS**

Se utilizó la técnica de Ruido Electroquímico obteniéndose respuestas del sistema en series de corriente y de potencial en función del tiempo. A partir de estas señales se obtuvo la resistencia de ruido ( $R_n$ ) y el índice de localización ( $IL$ ).



En adelante, los resultados de las pruebas electroquímicas se referirán a la actividad bacteriana mediante la curva de crecimiento.

### 5.2.1 RESPUESTA EN CORRIENTE Y EN POTENCIAL.

Se realizaron 250 series de Ruido Electroquímico para cubrir el tiempo de monitoreo de la actividad bacteriana. El registro de la señal se hizo cada 0.5 segundos en series de 1024 segundos, es decir 2048 puntos.

Los gráficos que se presentan en las figuras 5.2 y 5.3 son el promedio de todas las pruebas realizadas.

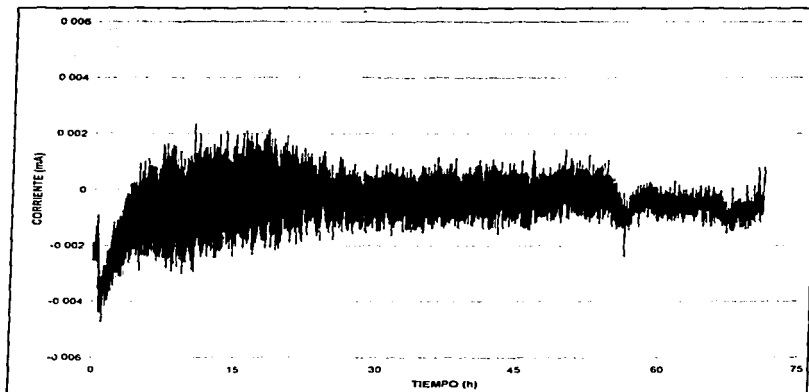
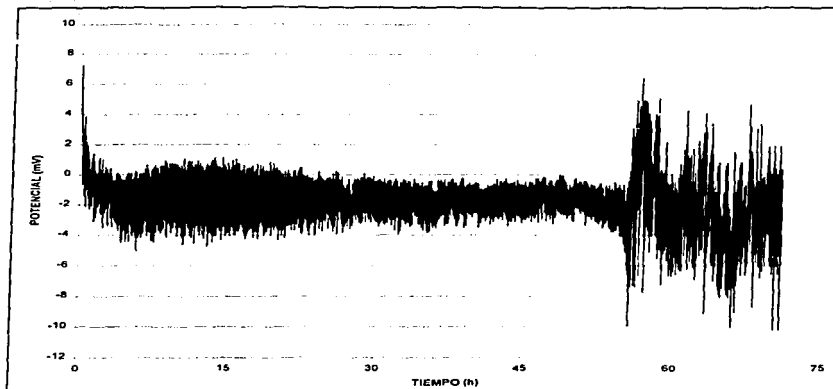


Figura 5.2 Corriente en Ruido para acero API X52 en caldo nutritivo sin bacterias.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



**Figura 5.3 Potencial en Ruido para acero API X52 en caldo nutritivo sin bacterias.**

En la gráfica 5.2 se observa una ligera disminución en la magnitud de los transitorios con el paso del tiempo, pero en general se mantiene constante. La forma de los transitorios no es típica de formación de picaduras en ninguna de las series, es decir, no se encuentran incrementos abruptos en la señal seguidos de decrementos suavizados. Esto podría ser debido a la agresividad del medio que no permite una re-pasivación de la picadura, o simplemente a que la toma de datos se da con una frecuencia demasiado alta y no da tiempo a que la señal alcance cierta estabilización.

En la señal de potencial en la figura 5.3 se observa un decremento al inicio de la prueba, después, la magnitud de los transitorios se hace constante hasta un punto donde se incrementa repentinamente hasta el final de la prueba. El decremento en el potencial al inicio de la prueba es debido a que el sistema está buscando su estado estacionario. El

incremento en la señal de potencial en la parte final de la prueba podría ser debido a la alteración en los productos de corrosión aunque el análisis de la señal con un electrodo de referencia nominalmente idéntico dificulta el saber perfectamente lo que ocurre con el electrodo de trabajo, ya que ambos electrodos cambian con el tiempo por lo que el potencial de electrodo de la referencia también es cambiante.

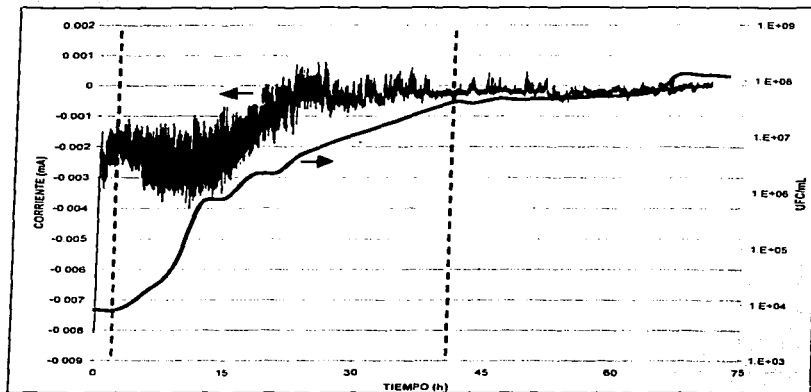


Figura 5.4 Corriente de Ruido asociada a la curva de crecimiento.

En la figura 5.4 se puede observar claramente como la señal de ruido en corriente entre los dos electrodos de trabajo disminuye con el tiempo. En la fase de crecimiento exponencial de las bacterias (fig 5.4 entre líneas punteadas) presenta transitorios con mayor amplitud, sin embargo cuando aún se encuentra en esta fase, la magnitud de los transitorios disminuye considerablemente. Esto quiere decir que las bacterias manifiestan su efecto hasta que éstas

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

han sobrepasado la fase de adaptación. En la fase de adaptación de las bacterias pareciera que éstas no tienen un efecto marcado en cuanto a la respuesta del sistema. Al establecerse ya una comunidad bacteriana se pueden ver los efectos de su actividad en una disminución en los transitorios de la señal de ruido lo cual puede significar una reducción en los sitios activos sobre la superficie del electrodo de trabajo.

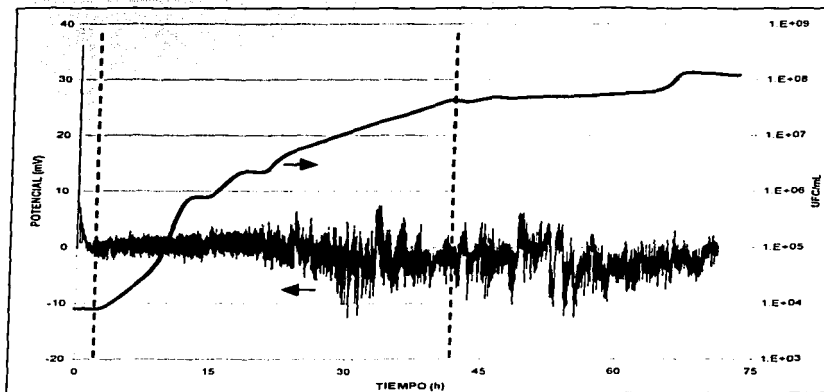
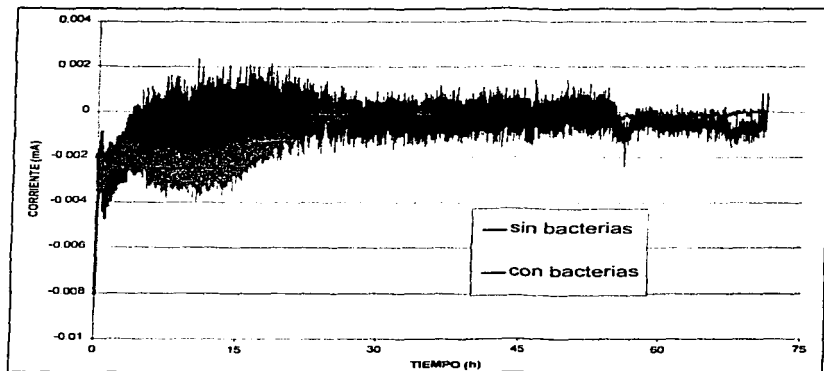


Figura 5.5 Potencial de Ruido asociado a curva de crecimiento.

La señal de ruido en potencial de la figura 5.5, no muestra variación con la presencia de bacterias y se mantiene constante a lo largo de la prueba. A pesar que en un inicio disminuye el potencial, una vez que ha alcanzado un estado estable de crecimiento bacteriano, se mantiene sin variaciones.

TESTE COM  
FALLA DE ORIGEN



**Figura 5.6 Comparativo entre los dos sistemas con y sin bacterias**

Para poder visualizar mejor el efecto de las bacterias en la señal de ruido electroquímico se referirá a la gráfica 5.6, en donde se superponen las dos señales de ruido en corriente; tanto del sistema sin bacterias como en presencia de éstas.

Es clara la diferencia que existe en ambos sistemas. En un inicio, a pesar de tener magnitudes similares, se observa que la presencia de bacterias disminuye ligeramente los transitorios, lo cual es magnificado con el desarrollo de la comunidad bacteriana.

El hecho de tener transitorios menores, hace pensar en un mecanismo de disminución de la corrosión. Es probable que las bacterias atenuen la corrosión por un mecanismo de consumo de oxígeno, en donde el poder reductor generado en el sustrato es introducido a la cadena respiratoria de la bacteria, la remoción del oxígeno lleva a una caída en las reacciones

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

catódicas en la superficie metálica y por ende a una disminución en la disolución del metal [17,28].

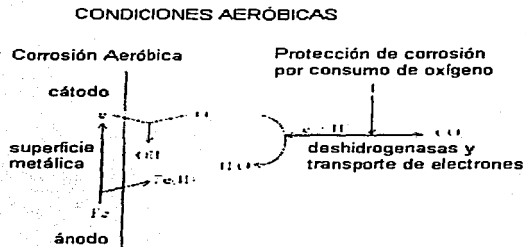


Figura 5.7 Teoría de inhibición de la corrosión por consumo de oxígeno. [28]

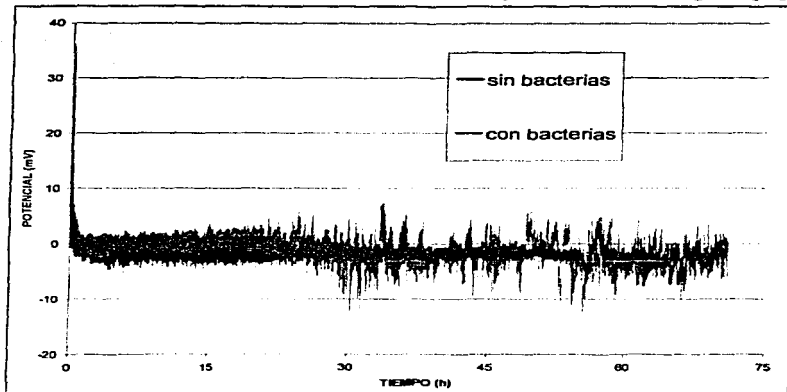


Figura 5.8 Comparativo en potencial para los dos sistemas, con y sin bacterias

TESIS CON  
FALLA DE OXIGEN

En la figura 5.8 se compara la señal de ruido en potencial del medio abiótico con la del medio con microorganismos. En este caso, no existe una respuesta en cuanto a la señal que indique una influencia de las bacterias ya que el comportamiento de ambas señales es muy parecido. De hecho, la señal en presencia de bacterias tiene transitorios ligeramente mayores, lo cual podría ser explicado suponiendo que al disminuir las zonas activas, la doble capa tiene más tiempo para su carga y descarga creando con esto transitorios de mayor amplitud, especialmente en el fenómeno de corrosión localizada.

### 5.2.2 RESISTENCIA DE RUIDO ( $R_n$ )

Al analizar la señal de Ruido, tanto en corriente como en potencial, es notorio que el daño corrosivo disminuye con la presencia de bacterias debido probablemente a un mecanismo de las bacterias quimiorganotróficas en donde consumen el oxígeno disuelto en la solución disminuyendo las actividades catódica y anódica del sistema [28,17]. Para comprobar el efecto sobre la resistencia a la corrosión de los electrodos se analizará la Resistencia de Ruido en ambos sistemas.

LA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

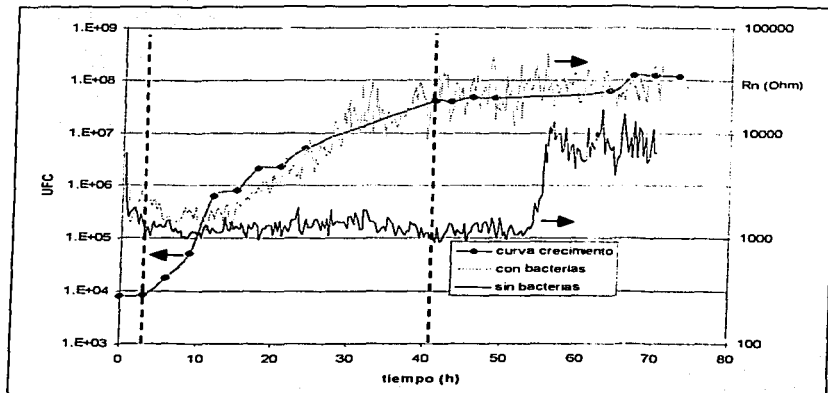


Figura 5.9 Comparativo de Rn para sistemas con y sin bacterias y su relación con la curva de crecimiento.

En la figura 5.9 se observa que, al igual que las señales de ruido obtenidas, no existe gran diferencia entre el sistema abiótico y el sistema con bacterias en las primeras 15 horas. Al incrementar su desarrollo, en plena fase de crecimiento logarítmico (fig 5.9 entre líneas punteadas), la diferencia entre ambos sistemas se hace más notoria y termina, en la fase estacionaria, siendo varias veces más grande la resistencia en ruido del sistema biológico.

A pesar que la presencia de bacterias disminuye el daño al material, al final de la prueba se encuentra una pasivación en el sistema abiótico probablemente debido a alguna capa de óxido formada en la superficie. Hay que recordar que las bacterias que aquí se analizan, promueven la reducción de los compuestos de Fe(III) a Fe(II), al no contar con bacterias es probable que se produzca una presencia mayor de óxido férrico, el cual es más estable

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



termodinámicamente que el óxido ferroso y podría formar una capa superficial estable, sin embargo no contamos con los argumentos necesarios para asegurar lo anterior.

Es importante señalar que en algunos sistemas se reporta una velocidad de corrosión utilizando la ecuación de Stern-Geary y los valores de  $R_p$ , sin embargo, no se sabe a ciencia cierta si el valor de  $R_n$  se puede utilizar análogamente al de  $R_p$  además que los valores para las pendientes Tafelianas [2,6] solo se suponen de valores teóricos en la zona de transferencia de carga de la curva de polarización. Sin embargo, el análisis aquí realizado no requiere forzosamente el valor numérico de la velocidad de corrosión sino más bien el efecto en los parámetros que utilizamos para obtener ese valor y es a partir de esos valores que se intenta entender el efecto bacteriano en la corrosión.

Se considera entonces que el efecto de las bacterias en la resistencia de ruido es que a medida que se tiene una mayor actividad bacteriana, la resistencia en la señal de ruido del sistema aumenta. Al aumentar la resistencia se puede suponer que el daño corrosivo es menor y probablemente el material se encuentre más protegido.

### 5.2.3 ÍNDICE DE LOCALIZACIÓN

Se considera que el índice de localización da información acerca del mecanismo de corrosión, y puede indicar si el sistema de estudio sufre de corrosión uniforme o localizada.

La corrosión inducida por microorganismos generalmente es caracterizada por un mecanismo de corrosión localizada, corrosión por picaduras. Hasta el momento, se ha encontrado que las bacterias en este estudio han disminuido el fenómeno corrosivo. A continuación veremos el efecto que tienen en la corrosión localizada.

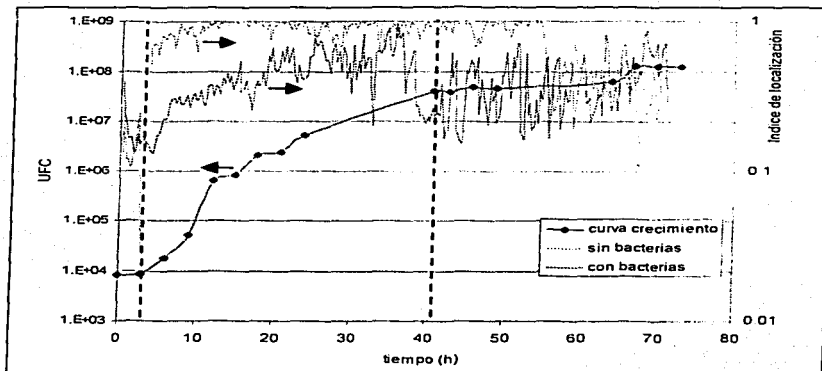


Figura 5.10 Comparativo entre los índices de localización de los sistemas con y sin bacterias.

En el sistema sin bacterias se encuentra un índice de localización cercano a la unidad (figura 5.10). Al revisar la composición del medio o caldo nutritivo en que se encuentran las probetas, se observa que tiene un alto contenido de un agente inductor de la corrosión localizada, el ion cloruro. Aunado a la presencia de este anión agresivo, también se tiene una temperatura superior a la temperatura ambiente. Estos factores, junto con la presencia de oxígeno, al tratarse de un medio aerobio, son los principales inductores de la corrosión localizada, por lo que se presumía encontrar este fenómeno.

Al analizar el índice de localización para el sistema biológico, es notorio que, al igual que el sistema abiótico, el índice de localización es cercano a la unidad pero ligeramente menor y éste disminuye aún más en la transición de fase de crecimiento exponencial y fase

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

estacionaria. Esto concuerda con los datos de la respuesta del sistema en corriente en donde, en la misma etapa de la prueba, la respuesta cambia para dar transitorios menores que pudieran significar una disminución en las zonas activas en la superficie.

En la figura 5.10 se pueden apreciar las curvas para ambos sistemas, el biológico y el abiótico. A pesar de los altos valores del índice de localización para ambos sistemas, es notoria la disminución en el sistema con bacterias demostrando una vez más que la presencia de bacterias en el medio tiene un efecto inhibitorio de la corrosión.

El análisis de los índices de localización, al ser obtenido de parámetros estadísticos, podría no ser tan válido, de hecho hay autores que lo consideran como una desviación del sistema de la idealidad y no como un indicador de mecanismos de corrosión [29].

Es por lo anterior que es necesario acoplar otras técnicas además de las electroquímicas al estudio de los fenómenos de corrosión. Esto se apreciará mejor en las imágenes obtenidas por microscopía electrónica.

### **5.3 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA**

Como se mencionó en la parte introductoria de este trabajo, la complejidad del fenómeno de corrosión asistido por microorganismos es tal que necesita un estudio multidisciplinario. Dicha complejidad incluye también a las técnicas de estudio, las cuales no se limitan a las técnicas electroquímicas. Una gran ayuda para entender el fenómeno de corrosión es la microscopía.

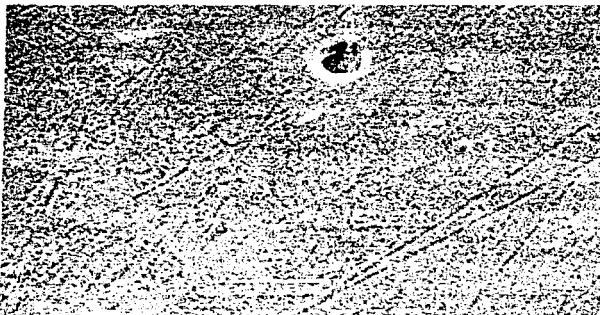


Figura 5.11 Superficie de acero expuesto a un medio nutritivo sin bacterias al terminar la prueba. 2000X

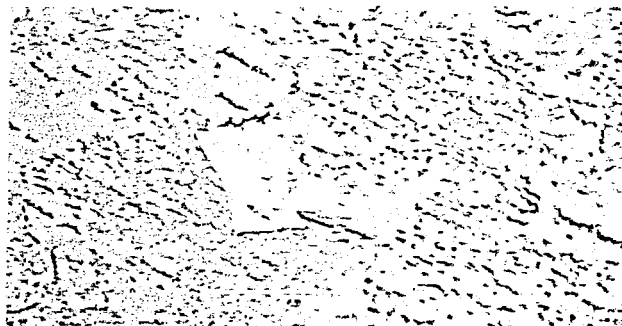
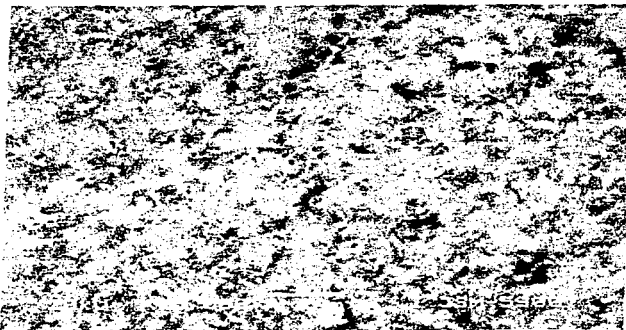


Figura 5.12 Superficie de acero expuesto a un medio nutritivo con bacterias al terminar la prueba. 2500X

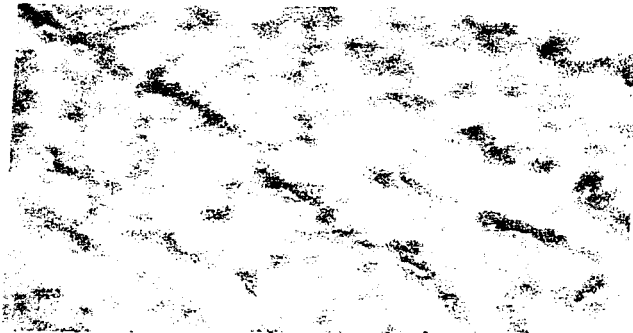
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Las imágenes de las figuras 5.11 y 5.12 muestran la superficie de los sistemas abiótico y biológico respectivamente justo después de terminada la prueba. Se puede observar que a pesar de contar con el mismo tipo de óxido, la distribución en el medio abiótico es homogénea, mientras en el medio bacteriano es en zonas preferenciales, además, de las figuras 5.13 y 5.14 se observa que el desarrollo de los productos de corrosión es mayor en el sistema bacteriano, es decir, los productos de corrosión crecieron más en el medio biológico, lo que podría ser explicado por la acción de los microorganismos que al reducir los compuestos férricos a ferrosos, producen óxidos menos estables, es decir, es probable que en el medio sin bacterias al ser producidos óxidos más estables, éstos no tengan oportunidad de desarrollarse y crecer tanto como en el medio bacteriano. Al tener condiciones más propicias para la formación de óxidos estables, habrá una mayor densidad de los mismos, sin embargo el análisis microscópico no permite definir la existencia de un óxido específico, por lo que no es posible determinar si la propuesta es cierta.



**Figura 5.13** Productos de Corrosión en la superficie de acero expuesto a un medio nutritivo sin bacterias al terminar la prueba. 15000X

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

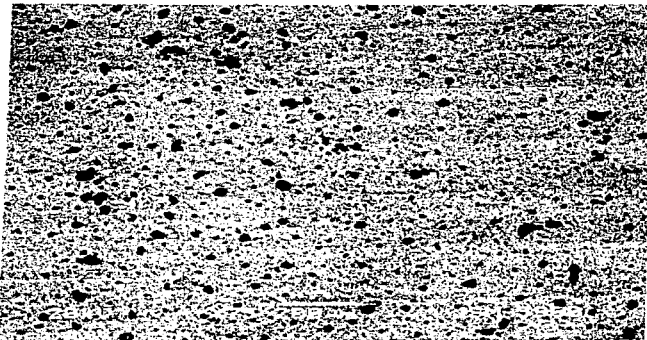


**Figura 5.14 Productos de Corrosión en la superficie de acero expuesto a un medio nutritivo con bacterias al terminar la prueba. 15000X**

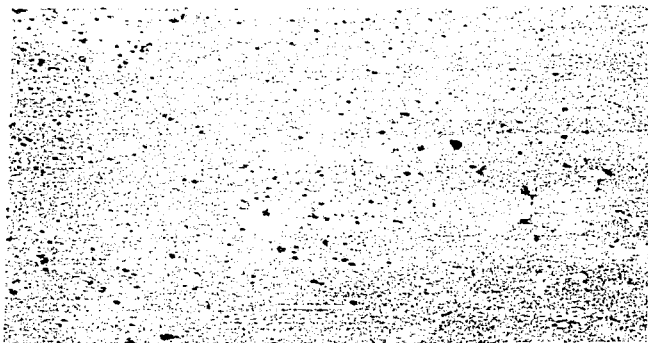
A pesar de las limitaciones de la técnica, lo más relevante del análisis microscópico es el notar la ausencia de rastros de una biopelícula bacteriana, lo cual es muy importante ya que es posible suponer el o los efectos del microorganismo en la posible disminución de la corrosión, la cual podría suceder no solo por el efecto de una biopelícula sino por el efecto directo del metabolismo de la bacteria, es decir, por alguna sustancia corrosiva que introduce a su cadena metabólica [28], de cualquier manera, el hecho de tener zonas preferenciales de óxidos en el sistema biológico (figuras 5.11 y 5.12) puede ser un indicio de colonias bacterianas adheridas a la superficie metálica.

Una vez que se analizaron los productos de corrosión, las probetas se limpiaron para observar el tipo de corrosión encontrado obteniendo los siguientes resultados

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



**Figura 5.15 Picaduras en la superficie de acero expuesto a un medio nutritivo sin bacterias. 75X**



**Figura 5.16 Picaduras en la superficie de acero expuesto a un medio nutritivo con bacterias. 80X**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En las figuras 5.15 y 5.16 se observa que la densidad de picaduras en el medio sin bacterias es mayor que en el medio bacteriano (aproximadamente 375 picaduras/mm<sup>2</sup> contra 250 picaduras/mm<sup>2</sup> del medio con bacterias).

Estos resultados corroboran las técnicas electroquímicas, ya que es notorio que en el medio sin bacterias se tiene un mayor número de picaduras o zonas activas, además, da cuenta del índice de localización, el cual se validó con los resultados de microscopía al evaluar la densidad de picaduras.

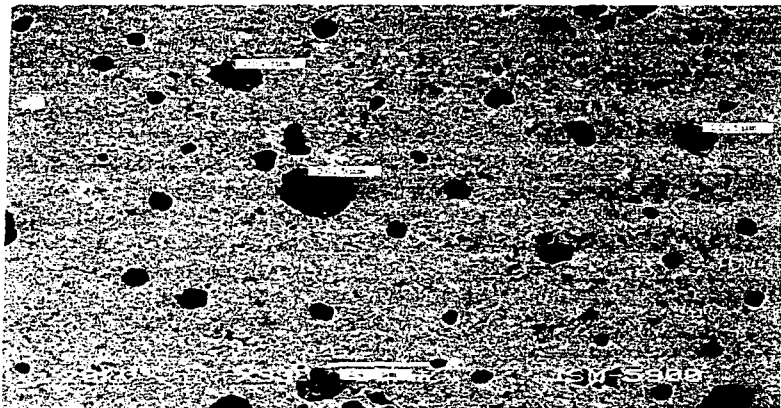
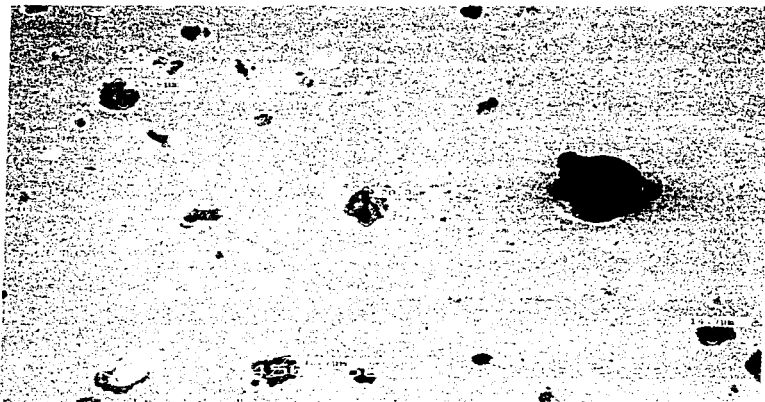


Figura 5.17 Diferencia en tamaño de picaduras en la superficie de acero expuesto a un medio nutritivo sin bacterias. 330X

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN





**Figura 5.18 Diferencias en tamaño de picaduras en la superficie de acero expuesto a un medio nutritivo con bacterias. 450 X**

En las figuras 5.17 y 5.18 se observa que la forma de las picaduras en ambos sistemas es similar, de tal manera que no influye la presencia de bacterias en la forma de las picaduras ni en la zona de ataque, ya que se da dentro del grano. También se observa que el medio sin bacterias presenta una amplia gama de tamaños de los orificios, mientras que el medio bacteriano presenta tamaños más homogéneos. Esto tiene relación con los sitios activos que se presumieron eran causantes del cambio en magnitud de los transitorios en las señales de corriente y potencial.

Es así como queda demostrada la relación entre la técnica de Ruido Electroquímico y la microscopía electrónica con la actividad y desarrollo bacteriano en la corrosión de un acero bajo carbono.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

La bacteria bajo estudio mostró una disminución en la magnitud de los transitorios de la técnica de ruido electroquímico, la cual, se presentó en la señal en corriente, lo que podría representar una disminución en zonas activas en la superficie metálica y una probable disminución en la corrosión.

Como se ha mencionado [15], existen varios mecanismos por los cuales se podría disminuir la corrosión por la presencia de microorganismos, entre ellos están:

- La presencia de una película pasivante creada por una biopelícula microbiana.
- La acción metabólica bacteriana al consumir sustancias agresivas para el metal.
- El cambio en las condiciones del medio provocado por la acción bacteriana.

En los análisis de microscopía electrónica que se realizaron, no se encontraron pruebas físicas de ningún tipo de bacteria ni tampoco películas microbianas adheridas a la superficie metálica. Al realizar una medición de pH de la solución al finalizar la prueba y compararlo con el pH al inicio, este se mantuvo alrededor de 7 en toda la prueba.

Estos resultados indican que la protección a un posible fenómeno de corrosión se pudiera dar al presentarse un mecanismo de actividad biológica que consume los metabolitos agresivos, por ejemplo, una disminución en la concentración de oxígeno por la respiración microbiana que disminuye a su vez la reacción catódica reduciendo la cantidad de reactante catódico disponible para la corrosión [15,17,28,33].

En el presente trabajo, dados sus objetivos y con la evidencia obtenida experimentalmente, no es posible definir con precisión el mecanismo por el cual se presenta una disminución en la corrosión por la presencia de microorganismos. Lo anterior pudiera ser obtenido si se diseñaran pruebas en donde se controlen y monitoreen las variables que puedan promover la disminución en el fenómeno corrosivo.

## **CONCLUSIONES**

---

- La diferencia entre los sistemas biótico y abiótico respecto a la señal de Ruido Electroquímico tanto en la respuesta en corriente como en potencial, demuestra que existe una influencia de la bacteria *Ferimonas sp.* sobre el comportamiento electroquímico del acero bajo carbono API 5L X52 en el medio de cultivo de prueba.
- Al obtener valores más altos de Resistencia de Ruido en el sistema bacteriano, se propone una posible disminución en el proceso de corrosión en presencia de la bacteria *Ferimonas sp.* Dicha disminución en la corrosión podría asociarse al consumo de oxígeno provocado por la respiración de la bacteria
- Es posible que la presencia de la bacteria *Ferimonas sp.* disminuya la formación de zonas activas en la superficie metálica como pueden ser las picaduras. Esto es demostrado por la diferencia en la densidad de picaduras en los sistemas abiótico y con bacterias.
- El carácter no perturbativo de la técnica de Ruido Electroquímico hace a esta técnica ideal para registrar pequeñas variaciones en corriente y potencial entre los electrodos. La sensibilidad de la técnica permite detectar pequeños cambios en la superficie metálica como puede ser la formación de zonas activas.
- El mayor efecto de la bacteria *Ferimonas sp.* en la disminución de la corrosión lo encontramos hasta que la comunidad bacteriana se encuentra completamente desarrollada.

**PAGINACIÓN**  
**DISCONTINUA**

11

## **APÉNDICE**

---

## APÉNDICE

II

Se presenta a continuación os medios utilizados elaborados de acuerdo a las normas DMSZ y al monitoreo bacterial de la NACE.

COMPUESTO	CANTIDAD (g)
EXTRACTO DE CARNE	3.000
EXTRACTO DE LEVADURA	3.000
PEPTONA	15.000
DEXTROSA	1.000
LACTOSA	10.000
SACAROSA	10.000
FeSO <sub>4</sub>	0.200
NaCl	5.000
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.300
FENOL ROJO	0.024
AGAR	12.000
AGUA DESTILADA	1000 ml
pH	7.4

Tabla A1. Medio de cultivo recomendado por la DMSZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen) característico de las bacterias reductoras del hierro. Clasificado como Medio 699.

[31]

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

COMPUESTO	CANTIDAD (g)
CITRATO FÉRICO	0.10
EXTRACTO DE LEVADURA	3.00
PEPTONA	15.0
MgCl <sub>2</sub>	8.80
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3.30
CaCl <sub>2</sub>	1.80
KCl	0.60
NaCl	19.5
NaHCO <sub>3</sub>	0.16
AGAR	15.0
AGUA DESTILADA	1000 ml
pH	8.0

Tabla A2. Medio de cultivo recomendado por la NACE (Nacional Association of Corrosion Engineers) para conteo de bacterias heterótroficas en general en aguas conteniendo más de 200,000 ppm de sólidos disueltos. [32]

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## **GLOSARIO**

---

## A

**ABIOTICO** Carente de la participación de agentes biológicos.

**AEROBICO** Expuesto al oxígeno

**AEROBIO** Organismo que requiere oxígeno para vivir

**AGENTE ANTIMICROBIANO** Agente químico o físico que elimina o inhibe el crecimiento de microorganismos.

**ALGAS** grupo heterogéneo de plantas fotosintéticas que abarcan desde formas microscópicas unicelulares a formas macroscópicas multicelulares tales como las algas marinas.

**ANAEROBIO** Organismo capaz de crecer en ausencia de oxígeno.

**ANTIBIOTICO** Agente químico que es producido por un organismo que resulta peligroso para otro tipo de organismo.

**ASENTAMIENTO/ADHESION** Interacción estable de una célula con respecto a una superficie. Al acercarse a una superficie, las células excretan sustancias que las ayudan a anclarse en la superficie.

**ATAQUE BAJO DEPOSITOS** Corrosión que ocurre debajo de un depósito sobre una superficie metálica donde se crean condiciones de aireación diferencial.

**AUTOTROFO** Organismo capaz de utilizar  $\text{CO}_2$  como única fuente de carbono.

**AGRUPACION DE CELULAS** Discreta unidad densamente empacada de células ( $10^{10}$  células/ml). La morfología es variable.

## B

**BACTERIA** Grupos de microorganismos caracterizados por estar recubiertos de una membrana celular (procariota) y carecer de un núcleo verdadero.

**BIOCIDA** Agente que es capaz de matar microorganismos, generalmente no es 100% efectivo. En biofilm, es un químico usado para desinfectar o remover biofilm con la finalidad de controlar un efecto detrimental del biofilm.

**BIOCORROSION** Corrosión causada o acelerada por agentes biológicos.

**BIODEGRADABLE** Que puede ser degradado por organismos vivos.

**BIODEGRADACION** Cambio producido por un sistema biológico de una sustancia orgánica en otra, independiente de la extensión de dicho cambio.

**BIODISPONIBILIDAD** La disponibilidad de un nutriente para la transformación o degradación microbiana. Típicamente, para que un nutriente sea biodisponible debe: 1) estar en la proximidad física a la célula y 2) estar disuelto en la fase acuosa, para ser transportado a través de la membrana celular. De esta manera, los nutrientes que son adsorbidos a superficies o introducidos en microporos que físicamente excluyen las células son generalmente considerados no disponibles.

**BIOPÉLICULA** Matriz gelatinosa de material polimérico extracelular de naturaleza polisacárida, con un elevado contenido de agua (95% masa), células microbianas y detritos inorgánicos variados.

**BIOFOULING** Acumulación de depósitos biológicos sobre una superficie.

**BIOTRANSFORMACION** Proceso efectuado por un sistema biológico mediante el cual la molécula es transformada en otra estructuralmente relacionada, también conocido como bioconversión.

**BUG** Usado por los microbiólogos para referirse casualmente a los microorganismos tales como bacterias, hongos, cianobacterias, protozoarios, microflagelados y otros organismos microscópicos.

## C

**CELULAS FACULTATIVAS** Células bacterianas que pueden vivir tanto en presencia como en ausencia de oxígeno.

**CEPA** Microorganismos de las mismas especies pero con características diferenciales y no considerados comúnmente de diferentes variedades.

**COLIFORME** Miembros del género *enterobacteriaceae*; barras facultativas no esporuladas que fermentan lactosa con la formación de gas en 48 h a 35°C @. Usada como indicador de organismos en agua y algunos nutrientes.

**COLONIA** Población de células creciendo en un medio sólido a partir de una colonia sencilla.

## D

**DESULFOVIBRIO** Género de bacterias que reduce el sulfato a H<sub>2</sub>S y obtienen energía por oxidación del mismo hidrógeno sulfurado o moléculas orgánicas.

## E

**ENZIMA** Catalizador proteínico que condice las reacciones químicas dentro de la célula. Demuestran un alto grado de especificidad reconociendo tanto el sustrato en el que actúan así como en el tipo de reacciones que catalizan. También pueden ser introducidas desde el exterior hacia la célula para provocar las reacciones bioquímicas.

**EPS** Término genérico referido a los polímeros de composición química variante que son excretados de la célula. Se relacionan con los términos exopolisacárido, polímero exocelular, exopolímero o sustancias poliméricas extracelulares. El término no hace distinción entre el enlace polimérico y el polímero excretado a los alrededores. En biofilm, el EPS se refiere a los polímeros que se distribuyen entre las células formando una matriz y anclando las células unas con otras y con el sustrato.

**ESTERIL** Libre de cualquier organismo viviente.

**EXOPOLIMERO** Material extracelular frecuentemente pegajoso que define la forma de los organismos y sirve para atrapar material particulado.

## F

**FACULTATIVAS** Indica que una bacteria es capaz de crecer en la presencia o ausencia de una condición ambiental.

**FACTOR LIMITANTE DE CRECIMIENTO** El parámetro el cual controla la razón de replicación de una bacteria u otra célula en el ambiente en donde reside.

**FERROBACTERIAS** Grupos de bacterias que oxidan al hierro como fuente de energía. El hierro oxidado es depositado en el ambiente por la secreción de la bacteria. La energía obtenida de estas reacciones es usada para desarrollar procesos en los cuales se producen las sustancias básicas necesitadas por la bacteria. Se encuentran en aguas derramadas en áreas mineras de carbón y hierro.

**FLAGELO** Apéndice de la célula bacteriana utilizado para su movilidad.

## H

**HETEROTROFICA** Aquella bacteria que requiere de fuentes orgánicas de carbono para sobrevivir y crecer.

**HETEROTROFO** Organismo que obtiene carbono de compuestos orgánicos.

**HONGOS** Algunos de los grupos importantes de plantas parásitas que carecen de clorofila incluyendo los mohos.

## I

**INCRUSTACION (SCALING)** Depósito de constituyentes insolubles en agua sobre una superficie metálica.

## L

**LEVANTAMIENTO** Transferencia de constituyentes del biofilm (células, exopolímeros, precipitados, etc.) desde el biofilm hacia el fluido circundante.

**LIMO** Material extracelular producido por algunos microorganismos, caracterizado por una consistencia mucilaginosa de variada composición química.

## M

**MATERIAL POLISMERICO EXTRACELULAR** Material polisacárido altamente hidratado segregado por los microorganismos para adherir a otras células o a sustratos sólidos a través de la formación de biofilm.

**MEDIO DE CULTIVO** Mezcla de sustancias usada para proteger nutrientes para el crecimiento celular. Puede ser líquido (caldo) o sólido (agar).

**MESOFILO** Organismo que crece mejor a temperaturas entre 20 y 50 °C.

**METABOLITO** Sustancia química producidas en el metabolismo celular.

**MICELIO** Conjunto de filamentos de un hongo.

**MICROBIO** Organismo microscópico.

**MICROORGANISMO** Se aplica a los representantes de los reinos vegetal y animal unicelulares y estructuralmente relacionados. Con pocas excepciones los organismos

unicelulares son invisibles a simple vista, y generalmente tienen dimensiones entre una fracción de micrón y 200 micrones.

**MINERALIZACION** Conversión total de compuestos orgánicos en biomasa CO<sub>2</sub> agua y sales minerales.

P

**PATOGENO** Aquel organismo capaz de producir enfermedades en el huésped.

**PLANCTON, PLANCTONICO** Microorganismos que flotan o deambulan en una corriente de agua.

**PLASMIDO** Elemento extracromosómico genético encontrado en las bacterias, no esencial para el crecimiento. Usualmente contiene información genética para la resistencia a un agente antimicrobiano o a la degradación de sustratos adicionales.

**PSICROFILO** Organismo que crece mejor a temperaturas menores a 30° C.

R

**RECALCITRANTE** Resistente a la biodegradación bajo cualquier condición.

S

**SEFIL** Adherido a una superficie.

**SECUENCIA GEN 16S-rRNA** Método de identificación basado en la determinación de la posición filogenética de microbios desconocidos con respecto a microbios conocidos. La determinación está basada en una cadena particular de DNA.

**SRB (Sulfate Reducing Bacteria)** Organismo que reduce metabólicamente sulfato a sulfuro de hierro.

**SUSTRATO** Material de sustancia que sufre cambios como consecuencia de un proceso. Superficie dentro de una matriz líquida que sirve como soporte físico bajo el cual los biofilm se acumulan.

## T

**TERMOFILO** Organismo que crece mejor a temperaturas mayores de 50° C.

**TUBERCULO** Excrecencia de las superficies metálicas constituidas por productos de corrosión que frecuentemente contienen bacterias vivas.

## U

**UNIDAD FORMADORA DE COLONIA (UFC)** El mínimo número de células separables en la superficie de un medio semi-sólido de agar el cual da lugar a una colonia visible del orden de decenas de millones de células. Las UFC pueden consistir de pares, cadenas y aglomerados así como de células sencillas.



- [1] Página web del Instituto Mexicano del Petróleo  
<http://www.imp.mx/>
- [2] Bard Allen  
Electrochemical Methods Fundamentals and Applications  
John Wiley & Sons 1980 (1, 500,51,89)
- [3] Moore, J.  
Chemical Metallurgy  
Ed Butterwoths 1990
- [4] Posadas Dionisio  
Introducción a la Electroquímica  
Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. 1980
- [5] Página web  
<http://voltaicpower.com/>
- [6] Bockris John  
Electroquímica Moderna  
Ed Reverté 1980 vol. 2 (951)
- [7] Pourbaix Marcel  
Atlas of Electrochemical Equilibria in Aqueous Solutions  
Pergamon Press 1a Ed 1966
- [8] Fontana Mars  
Corrosion Engineering  
McGraw-Hill Book Company 3a. Ed 1987

- [9] Videla H., Ferrari M., de Mele M.  
"Manual Práctico de Biocorrosión y Biofouling para la industria".  
Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo.  
Subprograma XV Corrosión/Impacto ambiental sobre materiales.  
Red Iberoamericana de Corrosión Microbiológica y Biofouling en Sistemas  
Industriales. 1995
- [10] Videla & Salvarezza  
"Introducción a la Corrosión Microbiológica"  
Biblioteca Mosaico 1984 (capítulos I y III)
- [11] Diego Pacheco, Hernández González & Priego Blancas  
"Evaluación de la Corrosión en Acero Estructural AISI 1010 Inducida por Bacterias  
Aerobias y Anaerobias"  
Tesis Ingeniero Químico, Facultad de Química, UNAM 1995
- [12] Iverson Warren  
"Anaerobic Corrosion: Metals and Microbes in Two Worlds"  
Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology  
1999 No. 22 ps. 288-297
- [13] Beech & Gaylarde  
"Recent Advances in the Study of Biocorrosión"  
Microbiology Journal vol 30 Agosto 1999 p.177-190
- [14] Página web  
<http://www.corrosioncost.com/>
- [15] Videla Héctor  
"Corrosion Inhibition in the Presence of Microbial Corrosion"  
Reviews on Corrosion Inhibition Science and Technology  
NACE 1996 p 1-8

- [16] Little, B & Ray R.  
"A Perspective on Corrosion Inhibition by Biofilms"  
Corrosion Science Mayo 2002 p 424-428
- [17] Ismail, K., Gehrig, T., Jayaraman, A., Wood, T., Trandem, K., Arps, P., & Earthman J.  
"Corrosion Control of Mild Steel by Aerobic Bacteria Under Continuous Flow Conditions"  
Corrosion Science vol 58 No. 5 ps. 417-423 Mayo 2002
- [18] Bergey's Manual of Systematic Bacteriology  
Taxonomic Outline of the Prokaryotic Genera  
Second Edition April 2001
- [19] Coates J., Ellis D., Gaw C., Lovley D.  
"*Geothrix fermentans* gen. nov. sp. nov., a novel Fe(III)-reducing bacterium from a hydrocarbon-contaminated aquifer"  
International Journal of Systematic Bacteriology  
1999 No. 49 ps. 1615-1622
- [20] Slobodkin A., Reysenbach A., Strutz N., Dreier M., Wiegel J.  
"*Thermoterrabacterium ferrireducens* gen. nov. sp. nov., a Thermophilic Anaerobic Dissimilatory Fe(III)-reducing Bacterium from a Continental Hot Spring".  
International Journal of Systematic Bacteriology  
April 1997 ps. 541-547
- [21] Rossello-Mora R., Ludwig W., Kampfer P., Amman R., Schleifer K.  
"*Ferrimonas balearica* gen. nov. sp. nov., a new marine facultative Fe(III)-reducing bacterium"  
Systematic and Applied Microbiology  
1995 No. 18 ps. 196-202

- [22] Ivanova E., Mikhailov V.  
"A new Family, Altermonadaceae fam. nov., Including Marine Proteobacteria of the Genera Altermonas, Pseudoalteromonas, Idiomarina and Colwellia."  
Microbiology vol 70 No 1 2001 ps. 10-17
- [23] Cottis R. & Turgoose S.  
"Electrochemical Impedance and Noise"  
Barry C. Syrett Series Editor  
NACE International 1999
- [24] Mansfeld F., Nagiub A.  
"Evaluation of microbiologically Influenced Corrosion Inhibition using Electrochemical Noise Analysis"  
Corrosion Science November 2001 ps. 2001-2009
- [25] Mansfeld F. & Little B.  
"A Technical Review of Electrochemical Techniques Applied to Microbiologically Influenced Corrosion"  
Corrosion Science vol 32 No. 3 pp. 247-272 1991
- [26] Thompson Neil & Payer Joe  
"DC Electrochemical Test Methods"  
Barry C. Syrett Series Editor  
Nace International 1998
- [27] Página web  
<http://www.gamrv.com/>
- [28] J. S. Potekhina · N. G. Sherisheva · L. P. Povetkina, A. P. Pospelov · T. A. Rakitina F  
"Role of microorganisms in corrosion inhibition of metals in aquatic habitats"  
Applied Microbiology and Biotechnology No. 52 Mayo 1999 pp 639-646.

- [29] Mansfeld F. & Sun Z.  
"Localization Index Obtained from Electrochemical Noise Analysis"  
Corrosion Science vol 55 No 10 junio 1999 pp. 915-918
- [30] Specification for Line Pipe  
American Petrol Institute  
API Specification 5L  
42va Ed enero 2000.
- [31] Página web DMSZ  
<http://www.dmsz.de/>
- [32] "Review of Current Practices for Monitoring Bacterial Growth in Oilfield Systems"  
NACE Technical Activities Department 1990 pp 1-8
- [33] Jayaraman, A. Ornek, D., Duarte, D., Lee, C., Mansfeld, F & Word, T.  
"Axenic Aerobic Biofilms Inhibition Corrosion of Cooper and Aluminum"  
Applied Microbiology Biotechnology No. 52 ps. 787-790 mayo 1999
- [34] Tanji, Y., Itoh, T., Nakano, T., Hori, K. & Unno, H.  
"Chemical Analysis of an Artificial Biofilm that Enlaces or Inhibits Carbon Steel  
Corrosion"  
Corrosion Science vol 58 No 3 ps. 232-237 Mayo 2002
- [35] Juyuruman A., Earthman J., Wood T  
"Corrosion Inhibition by aerobic biofilms on SAE 1018 steel"  
Applied Microbiology Technology 1997 No 47 ps. 62-68
- [36] Jayaraman A., Cheng E., Eathman J. & Wood T.  
"Axenic Aerobic Biofilms Inhibit Corrosion of SAE 1018 steel through Oxygen  
Depletion"  
Applied Microbiology Biotechnology marzo 1997 pp. 11-17

- [37] Dexter, S., Duquette, D., Siebert, O. & Videla, H.  
"Use and Limitations of Electrochemical Techniques for Investigating Microbiological Corrosion"  
Corrosion vol 47 No. 4 ps. 308-318 abril 1991

OTRAS OBRAS DE CONSULTA

Herro H.M.  
"MIC Myth. Does pitting cause MIC?"  
Nalco Chemical Company  
Paper No. 278 Corrosion 1998 p 278/1-278/20

Pérez Delgado Jaime  
"Determinación del Potencial en Acero Estructural en presencia de Corrosión Microbiológica inducida por *Desulfovibrio desulfuricans*."  
Tesis Química Facultad de Química UNAM 1991

Amaya M., Romero J.M. & Martínez L.  
"Corrosion Induced for a Novel Aerobic Bacteria Isolated in an Offshore Injection System".  
Corrosion vol 57 No. 11 2001 pp. 999-1003

Jones D. & Amy P.  
"A Thermodynamic Interpretation of Microbiologically Influenced Corrosion".  
Corrosion vol 58 No. 8 2002 pp. 638-645

Hernández G., Kucera V., Thierry A., Pedersen A. & Hermansson M.  
"Corrosion Inhibition of Steel by Bacteria"  
Corrosion vol 50 No. 8 1994 pp 603-608

Watnick P. & Kolter R.

"Biofilm, City of Microbes"

Journal of Bacteriology mayo 2002 pp 2675-2679

Nagjub A. & Mansfeld F.

"Evaluation of Microbiologically Influenced Corrosion Inhibition (MICI) with EIS and ENA"

Electrochimica Acta mayo 2002 pp. 2319-2333.