



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA.

“EFECTO BIOQUÍMICO DE LAS AGUAS DEL RÍO LERMA (TRAMO
SALAMANCA - GUANAJUATO) SOBRE ESTRUCTURAS
METÁLICAS.”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO QUÍMICO METALÚRGICO.

P R E S E N T A :

JUAN DE DIOS CASTRO ROBLES.



MÉXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA

2004.



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

JURADO ASIGNADO:

Presidente: CIRO ELISEO MÁRQUEZ HERRERA
Vocal: ROSA ELVA RIVERA SANTILLÁN
Secretario: FAUSTINO JUÁREZ SÁNCHEZ
1er. Suplente: NORMA MÓNICA LÓPEZ VILLA
2do. Suplente: BALDOMERO GÓMEZ REYES

SITIO DÓNDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Facultad de Química, UNAM. Edificio D, Laboratorio de Procesamiento de Minerales y Laboratorio de Metalurgia Extractiva

Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

ASESOR DEL TEMA: **M. en C. Faustino Juárez Sánchez**


_____.

SUPERVISOR TÉCNICO: **Dra. Rosa Elva Rivera Santillán**


_____.

SUSTENTANTE: **Juan de Dios Castro Robles**


_____.

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico muy especialmente a mis padres

Roberto Castro Leyva y Rosalinda Robles de Castro por su incondicional apoyo e infinita paciencia

A mis hermanos Rocío, Xochitl y Roberto

AGRADECIMIENTOS

Agradezco enormemente a mi asesor de Tesis, al M en C Faustino Juarez Sanchez y a mis sinodales Rosa Elva y Ciro por su apoyo y asesoría durante la realización de este trabajo

Un agradecimiento muy especial también al M en C Marco Antonio Ortiz Jiménez del Instituto de Investigaciones Biomédicas por su valiosa asesoría en el desarrollo experimental de esta trabajo

ÍNDICE

CAPÍTULO I.....	2
INTRODUCCIÓN.....	2
Planteamiento del problema:	4
Objetivo:.....	5
Hipótesis:.....	5
CAPÍTULO II.....	6
ANTECEDENTES	6
CORROSIÓN	6
Clasificación:	6
CORROSIÓN ELECTROQUÍMICA.....	7
Formas de corrosión.....	9
BIOCORROSIÓN.....	13
MICROORGANISMOS	14
Forma celular	18
Nutrición Microbiológica.....	20
MICROORGANISMOS Y CORROSIÓN	21
Aspectos generales.....	21
Acero Estructural	33
SITIO DE ESTUDIO.....	34
CAPÍTULO III	38
DESARROLLO EXPERIMENTAL	38
CAPÍTULO IV	52
RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	52
RESULTADOS DE LA PRIMERA FASE (Facultad de Química).....	52
Obtención de microorganismos Ferroxidantes y Sulfooxidantes	52
RESULTADOS DE LA SEGUNDA FASE (Instituto de Investigaciones Biomédicas)	54
CAPÍTULO VI.....	70
BIBLIOGRAFÍA:.....	70

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN.

El desarrollo industrial ha sido benéfico para la sociedad, sin embargo este mismo desarrollo causa daños ecológicos, muchos de los cuales se manifiestan inmediatamente, otros a largo plazo. Uno de estos casos es la biocorrosión, que es un proceso poco estudiado y que puede causar graves daños a las estructuras metálicas de industrias, edificios y casas.

En la vida diaria con frecuencia consideramos a la corrosión de los metales como algo molesto que se debe prevenir y evitar, ya que de no hacerlo se tendrían que desechar todos los materiales metálicos, los materiales que sufren mayor daño son los que están expuestos al medio ambiente, es decir, que no tienen un recubrimiento, principalmente cuando este medio ambiente corresponde a un clima húmedo y cálido.

Sin embargo, la corrosión no es un hecho trivial, a nivel mundial, es uno de los fenómenos más trascendentales en la economía de toda sociedad humana. En términos generales de acuerdo con la Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos (Programa Regional Desarrollo Científico y Tecnológico) los perjuicios causados por la corrosión equivalen del 1.5 al 3.5% del Producto Nacional Bruto en numerosos países.

Por lo que se refiere a los perjuicios que el fenómeno de la corrosión ocasiona en las estructuras industriales, puentes, edificios, etc., cabe mencionar que hoy en día se tiene plena conciencia de que el factor más determinante para la reducción en la durabilidad en los aceros, es la falta de control de la corrosión.

Es interesante hacer la observación de que generalmente se utilizan, en el diseño de la construcción de obras estructurales, aleaciones que resistan las condiciones corrosivas en las

que va a estar expuesta la estructura, pensando también en lo costoso que será su mantenimiento.

Dentro de los casos de corrosión más significativos, económicamente hablando, son los que se dan en los hierros y aceros en forma de tanques de almacenamiento, tuberías de transporte de hidrocarburos, transporte de fluidos o gases, bombas, aceros estructurales, entre los más costosos.

La mayor parte de la corrosión de metales, se da en un medio ambiente acuoso oxigenado, es un fenómeno electroquímico en el cual los iones del metal van hacia la solución (reacción anódica), los electrones que se liberan se combinan con el oxígeno para formar iones hidroxilo (reacción catódica), pero este medio no es el único, ya que en ambientes anaeróbicos, el oxígeno es reemplazado por iones hidrógeno o agua como reactantes catódicos. La implicación de microorganismos en la corrosión del metal nos lleva a la cuestión de ¿cómo los agentes biológicos afectan a los procesos de corrosión? y si éstos son capaces de modificar la naturaleza electroquímica de la reacción?.

Planteamiento del problema:

Se observó en la estructura del puente peatonal (Fig.1) de la Ciudad de Salamanca Gto., una fuerte corrosión así como la presencia de una probable actividad microbiológica en las aguas del Río Lerma, infiriendo por lo tanto una probable correlación entre la corrosión de la estructura y la actividad microbiana (Fig.2 y 3).



Fig. 1 .- Puente peatonal sobre el río Lerma



Fig. 2.- Vista del soporte de concreto y la estructura del puente, en la cual se pueden apreciar los puntos de corrosión.



Fig. 3.- Vista de la estructura del puente en la parte inferior, la corrosión es mayor.

Objetivo:

Realizar el estudio en probetas de un acero estructural similar al utilizado en la construcción del puente, en el cual se detectó el problema de corrosión en la parte de abajo cercana al Río y determinar si la presencia de microorganismos tomó parte en el proceso de corrosión de dicho acero.

Hipótesis:

La presencia de materia inorgánica contaminante, así como la descomposición de materia orgánica, provocan que el tramo del Río Lerma bajo estudio, se convierta en un caldo de cultivo propicio para el desarrollo de bacterias involucradas en el proceso de corrosión.

CAPÍTULO II

ANTECEDENTES

CORROSIÓN

La corrosión se define como la acción química, electromecánica, mecano química, o biológica, lenta o acelerada de la naturaleza o el medio ambiente, que degrada y destruye los materiales.

Este fenómeno, se manifiesta más evidentemente en los cuerpos sólidos como son los metales, las cerámicas, los polímeros artificiales, los agregados y los minerales fibrosos de origen natural.

El fenómeno de la corrosión de la materia sólida consiste básicamente en la pérdida del equilibrio en las fuerzas cohesivas. Las fuerzas que mantienen la cohesión de la materia sólida son de naturaleza eléctrica.

Esta cohesión es el resultado del equilibrio de las fuerzas de atracción entre los núcleos atómicos positivos y los electrones con carga negativas, con las fuerzas de repulsión de los electrones entre sí y de los núcleos atómicos entre sí.

Clasificación:

- *Corrosión química:* se estudian bajo esta denominación los casos en que el metal reacciona con un medio no iónico, por ejemplo: la oxidación en aire a alta temperatura.

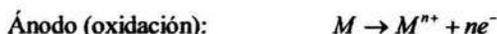
- **Corrosión electroquímica:** en donde hay participación de iones metálicos, todos los procesos de corrosión son electroquímicos. Sin embargo, implica un transporte simultáneo de electricidad a través de un electrolito (PEMEX, 1999).

CORROSIÓN ELECTROQUÍMICA

La corrosión electroquímica es un proceso espontáneo que denota siempre la existencia de una zona anódica (la que sufre la corrosión), una zona catódica y un electrolito, y es imprescindible la existencia de estos tres elementos, además de una buena unión eléctrica entre ánodos y cátodos, para que este tipo de corrosión pueda tener lugar. La corrosión más frecuente siempre es de naturaleza electroquímica y resulta de la formación sobre la superficie metálica de multitud de zonas anódicas y catódicas; el electrolito es, en caso de no estar sumergido o enterrado el metal, el agua condensada de la atmósfera, para lo que la humedad relativa deberá ser del 70%.

El proceso de disolución de un metal en un ácido es igualmente un proceso electroquímico, la infinidad de burbujas que aparecen sobre la superficie metálica revela la existencia de infinitos cátodos, mientras que en los ánodos se va disolviendo el metal. A simple vista es imposible distinguir entre una zona anódica y una catódica, dada la naturaleza microscópica de las mismas (micropilas galvánicas). Al cambiar continuamente de posición las zonas anódicas y catódicas, llega un momento en que el metal se disuelve totalmente.

Las reacciones que tienen lugar en las zonas anódicas y catódicas son las siguientes:



En medio neutro o alcalino la reacción principal proviene de la reducción del oxígeno disuelto de donde se forman iones hidroxilo, los cuáles son relativamente estables en el electrolito:

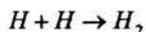
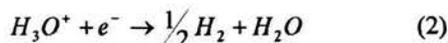


(Genesca, 1989)

En medio anaeróbico o electrolitos ácidos, la reacción que se lleva a cabo es la reducción del hidrógeno:

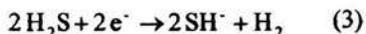


ó



Esta reacción mucho más lenta (excepto en condiciones ácidas) explica por qué la corrosión es apenas vista en ambientes anaeróbicos (excepto con metales tales como aceros inoxidable y en la presencia de microorganismos).

Cuando ambas reacciones están presentes (condiciones aireadas ácidas), los protones son más fácilmente disponibles que el oxígeno y la ecuación (1) es la ruta principal de consumo de electrones. Pueden ocurrir otras reacciones catódicas consumidoras de electrones, por ejemplo, los microorganismos pueden producir reactivos catódicos por su actividad metabólica como es el caso de las BSR. La producción de reactivos catódicos como H_2S o mezclas de SH^- pueden iniciar reacciones catódicas alternativas, por ejemplo, el H_2S puede reaccionar catódicamente como sigue:



Las BSR actúan sobre la corrosión de una manera indirecta debido al efecto del sulfuro de hidrógeno que será usado como reactivo catódico como se muestra en la ecuación (3). Estas reacciones catódicas determinan las áreas anódicas y catódicas de la superficie metálica.

En una escala microscópica, un metal es raramente uniforme y cada grano tendrá ligeras diferencias en su superficie, algunas veces, unos granos actúan como ánodos mientras que otros lo hacen como cátodos. Unas fracciones de segundo después, las condiciones se pueden revertir, y este constante cambio de sitios anódicos y catódicos explica el por qué un metal muestra herrumbre uniforme sobre su superficie.

Así, la superficie de un metal corroído tendrá dos distintos tipos de sitios de reacción: ánodos, donde los iones del metal viajan dentro de la solución, y cátodos, donde los electrones son removidos. El electrolito es requerido para cerrar el circuito. Los sitios anódicos y catódicos serán determinados por las diferencias físicas y químicas en la superficie metálica (Videla, 1997).

Formas de corrosión.

Cuando la superficie del metal se corroe en una forma casi uniforme se dice que la corrosión es de tipo "general". Es la forma más benigna o menos peligrosa pues el material se va gastando gradualmente extendiéndose en forma homogénea sobre toda la superficie metálica y su penetración media es igual en todos los puntos. Un ataque de este tipo permite evaluar fácilmente y con bastante exactitud la vida de servicio de los materiales expuestos a él.

A veces el ataque se profundiza más en algunas partes pero sin dejar de presentar el carácter de ataque general constituyendo un caso intermedio entre corrosión uniforme y corrosión localizada.

La corrosión se puede presentar de varias formas:

Corrosión general: La corrosión general es la forma más común que se puede encontrar y la más importante en términos de pérdidas económicas. Como ya se había mencionado, se caracteriza por un ataque más o menos uniforme en toda la superficie expuesta con solamente variaciones mínimas en la profundidad del daño. En las estructuras se pueden usar recubrimientos especiales para minimizar el ataque de la corrosión.

Corrosión galvánica: Se puede producir un daño severo por corrosión cuando dos o más metales distintos se acoplan eléctricamente. Esto se conoce como corrosión galvánica y resulta por la existencia de una diferencia de potencial entre los metales acoplados que causa un flujo de corriente entre ellos. El metal más activo padece una corrosión más acelerada, mientras que la corrosión en los miembros menos activos se retarda o se inhibe.

Corrosión por hendiduras: La corrosión por hendiduras se presenta en espacios confinados o hendiduras que se forman cuando los componentes están en contacto estrecho. Para que se presente la corrosión por hendidura, la hendidura debe ser muy cerrada, con dimensiones menores a un milímetro. Aunque no se han definido los límites de la brecha, es conocido que este tipo de corrosión no se presenta en espacios más grandes.

Para que se presente la corrosión por hendiduras no es necesario que las dos superficies de aproximación sean metálicas. También se ha reportado corrosión por hendiduras formadas por varios materiales no metálicos (polímeros, asfaltos, vidrio, neopreno) en contacto con superficies metálicas. El hecho de que esto pueda ocurrir es de una importancia especial en la aplicación y selección de materiales de juntas de dilatación, apoyos, etc.

Corrosión por Picaduras: La corrosión "por picadura", se presenta cuando una superficie metálica que ha sido pasivada se expone a un medio agresivo. Durante el picado, el ataque se sitúa en puntos aislados de superficies metálicas pasivas y se propaga hacia el interior del metal formando en ocasiones túneles microscópicos.

Las cavidades que se forman pueden variar en cantidad, tamaño y forma. Las picaduras pueden contribuir de manera importante a una falla general, en componentes sujetos a esfuerzos muy altos, dando como consecuencia la falla por corrosión bajo tensión.

El picado se puede presentar en varios metales y aleaciones, pero los aceros inoxidables y las aleaciones de aluminio son susceptibles en especial a este tipo de degradación.

Agrietamiento por corrosión y esfuerzos: El agrietamiento por corrosión y esfuerzos es una falla corrosiva en la que se forman las grietas de un componente bajo la acción combinada de esfuerzos mecánicos y un medio ambiente agresivo. Los esfuerzos y el medio ambiente agresivo se unen para ocasionar una falla súbita.

Corrosión localizada: Los sitios de reacción anódicos y catódicos sobre una superficie metálica corrosiva serán permanentemente separados en escala macroscópica y microscópica, y esto provoca corrosión localizada. Los efectos de la actividad anódica puede ser severa y las estructuras pueden ser penetradas e inutilizables en corto tiempo.

La disolución de iones es proporcional al número de electrones consumidos, una pequeña área anódica que será “manejada” por una larga área catódica perderá los iones tan rápido como sea físicamente posible.

Un ejemplo de la separación de las áreas anódicas y catódicas, es el de una gota de agua sobre una superficie metálica (fig 4). Cerca de su frontera con aire, la concentración de oxígeno es más alta. Esta parte suministrará la reacción catódica para la reducción del oxígeno.

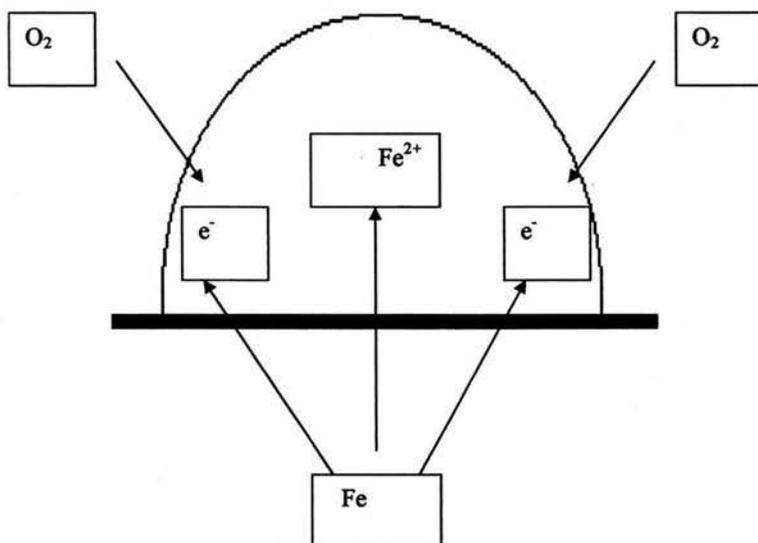


Fig. 4.- Esquema del proceso de corrosión cuando una gota de agua se deposita sobre la superficie metálica.

En la región lejos del oxígeno, se lleva a cabo la reacción anódica de oxidación del hierro y los electrones son transferidos por el metal del ánodo al cátodo, siendo formada así una celda electroquímica en la zona interfase metal/solución del metal donde la gota de agua está situada.

La corrosión localizada puede ser causada por depósitos sobre la superficie metálica que crean una diferencia en la disponibilidad de oxígeno (“celda de aireación diferencial”), la celda o la diferencia en la disponibilidad de oxígeno puede ser causada por una colonia de bacterias (Fig.5).

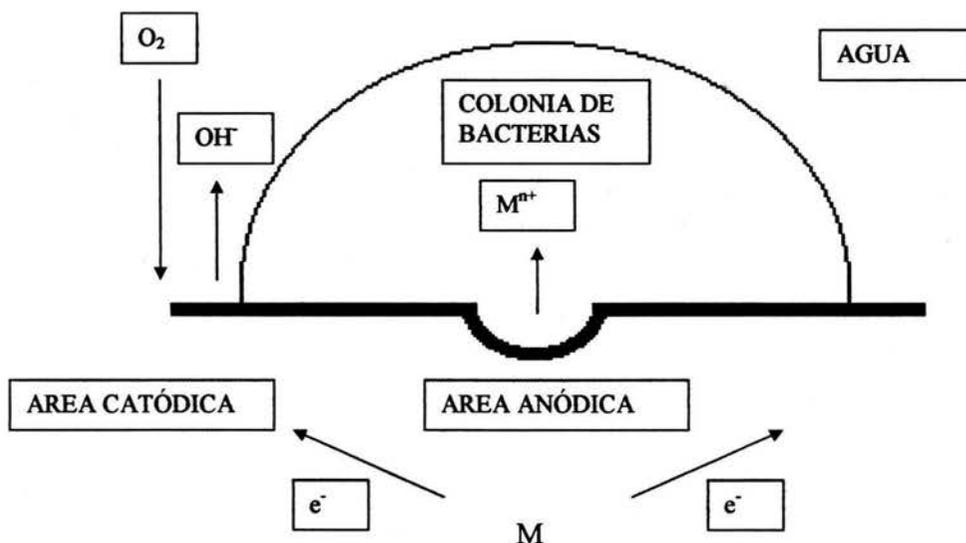


Fig. 5.- Esquema de biocorrosión provocado por una colonia de bacterias (depósito).

El área con menor disponibilidad de oxígeno (bajo el depósito) es forzada a volverse ánodo, mientras que el área fuera del depósito se comporta como cátodo. La reacción depende de la continuidad del electrolito entre el ánodo y el cátodo (en este caso por el mucílago microbiano). En casos donde no hay continuidad del electrolito bajo el depósito, puede ocurrir un efecto crevice (el electrolito permanece estancado y la corrosión ocurre en un hueco), resultando un anillo de corrosión alrededor del borde del depósito.

BIOCORROSIÓN.

La corrosión microbiológica puede ser definida como un proceso electroquímico donde la participación de los microorganismos provoca el inicio, la facilidad o aceleración de la reacción de corrosión sin cambios en la naturaleza electroquímica.

Los dos componentes del sistema característicos en una corrosión abiótica (metal + solución), cambian a tres componentes del sistema en una biocorrosión (metal + solución + microorganismos), así como también el comportamiento de la interfase metal/solución, la cual será condicionada por la interacción de esos tres componentes.

Los microorganismos colonizan áreas inaccesibles tales como el interior de un crevice o una picadura, resistiendo al esfuerzo cortante de la circulación de un líquido sobre la superficie metálica, gracias a sus pequeñas dimensiones facilitando una rápida dispersión de las bacterias. Los efectos sinérgicos de varias propiedades de los microorganismos como su relación de crecimiento, variedad de productos metabólicos (muchos de ellos de naturaleza corrosiva), y su alta relación de volumen-superficie, permiten una interacción muy activa con el medio ambiente.

Esta característica explica como una interfase metal/solución cambia con la presencia de microorganismos y la velocidad de corrosión puede ser incrementada con la presencia de los microorganismos.

MICROORGANISMOS

Aunque todas las células microbianas tienen muchos constituyentes en común, hay dos principales tipos de células que difieren en varias características particulares de estructura celular, éstas son: **células procariotas** y **células eucariotas**. Los principales aspectos que las diferencian se encuentran en el núcleo estructural: **eucariota** (eu: bien, cariota: definido), son células que presentan un núcleo bien definido, generalmente contienen dentro de una membrana los cromosomas portadores del material genético.

Las células procariotas no presentan estructura nuclear o cromosómica definida. Una sección del núcleo puede ser vista como una red mal definida continua con el citoplasma (la célula procariótica carece de membrana nuclear). Estructuras especiales parecidas como la

mitocondria y el cloroplasto, están ausentes en esta célula que está caracterizada por tener menos secciones con respecto a una célula eucariótica (Fig.6).

Los microorganismos son clasificados como plantas o animales y pertenecen al reino protista, como alto-protista (con células eucariotas) y como bajo-protista (con células procariotas)(Fig.7).

Características	Células	
	Procariotas	Eucariotas
Membrana Nuclear	Ausente	Presente
División Mitótica	Presente	Presente
Cromosomas	Único	Múltiple
Mitocondria	Ausente	Presente
Flagelo	Único	Múltiple

Tabla 1.- Principales diferencias entre células procariotas y eucariotas.
(Videla, 1997)

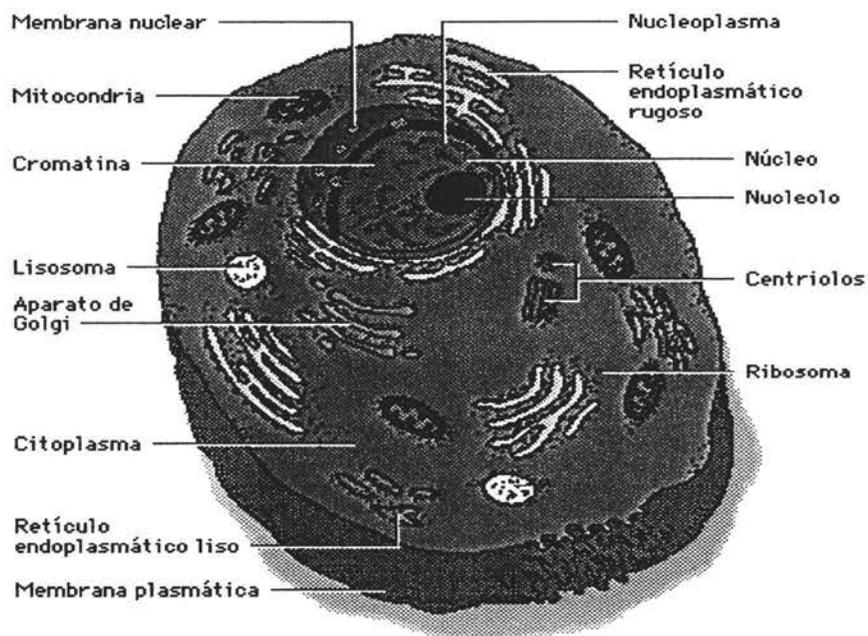


Fig. 6: Célula eucariota

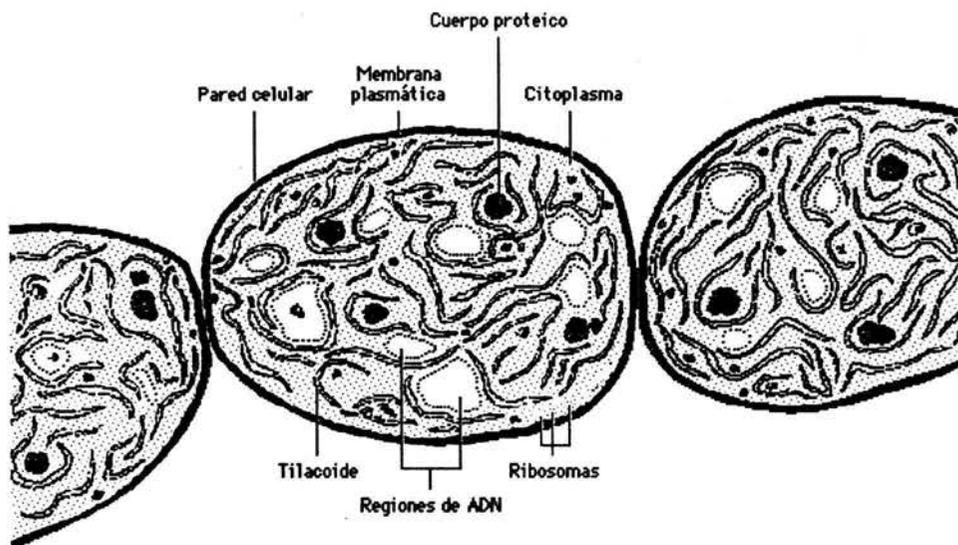


Fig. 7.- Célula procariota: cianobacteria (alga verdeazulada)

Muchas bacterias son móviles debido a unas especiales estructuras extracelulares llamadas flagelos, estas largas y delgadas estructuras están fijadas en un extremo en la membrana citoplásmica, mientras que el otro extremo está libre. El número y localización de flagelos es un criterio útil para la identificación y clasificación de células microbianas.

Para comprender el fenómeno de la oxidación bacteriana, es necesario familiarizarse con términos tales como quimiolitautótrofos obligados y autótrofos facultativos, en combinación con el sistema que clasifica a las bacterias en mesófilas, termófilas moderadas y termófilas extremas, sin embargo, para fines más prácticos es suficiente conocer que algunos organismos obtienen su energía mediante la oxidación de materiales inorgánicos (los quimiolitótrofos) y algunos utilizan el bióxido de carbono del aire como única fuente de carbono (los autótrofos).

Algunos organismos como los quimiolitautótrofos, solamente pueden vivir de este modo, por otra parte, las bacterias heterotróficas utilizan compuestos orgánicos como fuente de carbono. Hay aun otras bacterias que aunque pueden obtener su carbono por

metabolización de compuestos orgánicos, tienen la facultad de ser autotróficas en determinadas condiciones (autótrofas facultativas) (brewis, 1996).

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

Forma celular.

Las células procariotas son caracterizadas por formas poco simples, a pesar del hecho de que la forma celular es generalmente influenciada por el medio ambiente en donde el microorganismo vive y crece. Las bacterias esféricas son generalmente llamadas cocos, y según el grupo que ellas forman, pueden ser clasificadas como diplococos (dos bacterias), streptococos (cadenas formadas por varios cocos), straphylococos (grupos en forma de racimos de uva de cocos), o tetradas (grupos de cuatro cocos juntos). Algunos microorganismos presentan un aspecto filiforme, es frecuente encontrar bacterias creciendo en sistemas donde fluye el agua (bacterias filamentosas), otras presentan una forma de espiral (bacterias espiriloides) o curvada, también las hay en forma de barra (bacilos) como en el caso de la bacteria del género *Vibrio* (Fig. 8).

Las formas se muestran a continuación:

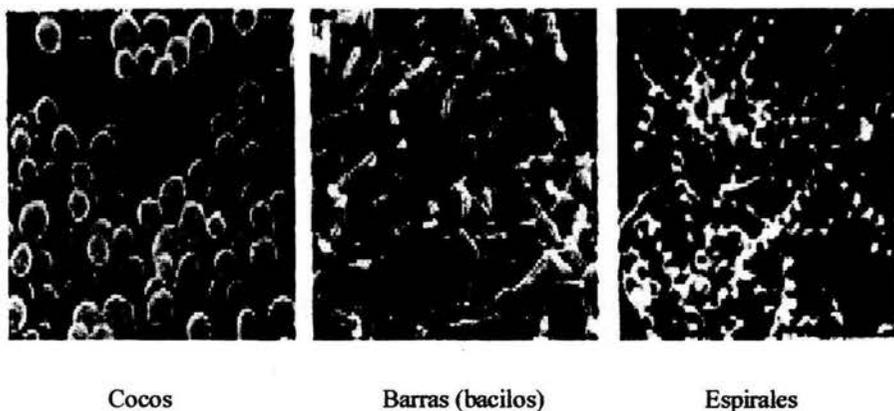


Fig. 8. Formas de Bacterias

La bacteria en forma de barra tiene una mayor relación de superficie-volumen que la bacteria esférica; en consecuencia, ellas pueden tomar nutrientes más fácilmente cuando son diluidas en medio acuoso. Por lo tanto, los *bacillus* son las bacterias más frecuentemente encontradas en ambientes naturales o industriales caracterizados por sus bajos niveles de nutrientes (Videla, 1997).

Las esporas, son otra de las estructuras de las células procariotas, que son capaces de resistir condiciones adversas (p.e. altas temperaturas) y frecuentemente se encuentran en el suelo.

Composición Química.

El primer componente químico de los microorganismos es el agua, 75% del peso celular como mínimo es el peso del agua, sin embargo en algunas ocasiones se mantiene constantemente más alto. El agua provee el medio líquido en el cual los constituyentes orgánicos e inorgánicos serán disueltos.

Elementos minerales tales como potasio, sodio, magnesio, calcio, hierro, zinc, molibdeno y cobalto están entre los constituyentes inorgánicos de la composición de la célula.

Nutrición Microbiológica.

Los nutrientes para la célula son: el hidrógeno, oxígeno, carbono, nitrógeno y fósforo y menores cantidades de potasio, sodio, magnesio, calcio y hierro. El carbono es el constituyente más abundante de la célula y puede ser obtenido de materia inorgánica o directamente del dióxido de carbono, de acuerdo al tipo de microorganismo. El nitrógeno y el fósforo son complementos esenciales para el carbono, hidrógeno y oxígeno en el metabolismo de la célula. La carencia de uno o varios de estos elementos, limita el crecimiento y actividad de los microorganismos; en tanto que su abundancia puede favorecer un crecimiento incontrolado de algunas especies y el detrimento de otras.

Usualmente, el requerimiento biológico de oxígeno, nitrógeno y fósforo tiene una relación de 100: 6.5: 1.5 en medio aerobio y 100: 11: 2 en medio anaerobio, dando una actividad microbiológica dinámica. Cantidades bajas de nitrógeno y fósforo limitan el crecimiento, y altas cantidades provocan un incontrolado y masivo crecimiento, especialmente en el caso de algas.

En corrosión biológica, un menor abastecimiento en las cantidades de nutrientes por el medio ambiente puede permitir a ciertos microorganismos cambiar el medio ambiente de inerte a agresivo. Este es el caso en el consumo del fungicida de nitrato (inhibidores de corrosión de aluminio y sus aleaciones), cuando los nitratos son usados como única fuente de nitrógeno (Videla, 1997).

MICROORGANISMOS Y CORROSIÓN

Aspectos generales.

Los microorganismos son capaces de cambiar activamente el medio circundante de la superficie metálica para facilitar el proceso de corrosión. La participación microbiológica en la corrosión es raramente realizada por un solo mecanismo o por una sola especie de microorganismo. En general se encuentran varias características en los procesos de biocorrosión:

- La alteración de la interfase metal/solución por actividades metabólicas microbiológicas.
- El crecimiento de bacterias en biocapas adherentes, facilitando el desarrollo de consorcios estructurados que aumentan el efecto de las actividades metabólicas microbiológicas.

Algunos de los modos de acción que inician o aumentan la corrosión son:

- 1.- La producción de metabolitos ácidos que son capaces de disminuir las características protectoras de una capa inorgánica (p.e. ácido sulfúrico producido por la bacteria azufre-oxidante).
- 2.- El incremento del potencial redox por actividades metabólicas induciendo condiciones favorables para la corrosión.
- 3.- La alteración de los gradientes de oxígeno para permitir la aereación diferencial (p.e. el efecto de las biocapas de bacterias aeróbicas en la corrosión de aceros inoxidable en agua marina).

4.- El ataque selectivo de bacterias en áreas soldadas del metal (p.e. el ataque preferencial de la austenita por la hierro-oxidante *Gallionella* sobre soldaduras dobles de ferrita-austenita).

5.- La facilidad de iniciarse las picaduras por los efectos de la adhesión microbiológica.

6.- Consumo microbiológico de inhibidores de corrosión.

7.- Disolución de capas protectoras en la superficie metálica (p ej. la reducción de productos inorgánicos de corrosión (insolubles) de Fe^{3+} a compuestos (solubles) de Fe^{2+} por un *Vibrio* marino) (Videla, 1997).

Microorganismos procarióticos relacionados con procesos de corrosión

Varias de las bacterias relacionadas con procesos de corrosión tienen una función en común: formar parte del ciclo del azufre en la naturaleza.

Bacterias azufre-oxidantes o Thiobacillus

El azufre elemental y varios estados de oxidación de este elemento son debidos a la así llamada azufre-bacteria. Esta bacteria pertenece a una amplia variedad de especies que incluyen quimioautótrofos, quimioheterótrofos y fotoautótrofos. Entre los anteriores, uno de los géneros más conocidos es el *Thiobacillus*. Ellos son microorganismos aeróbicos que usan el dióxido de carbono como la principal fuente de carbono.

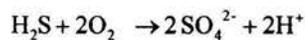
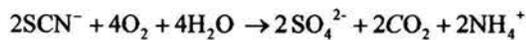
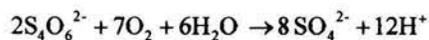
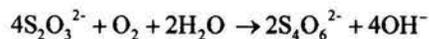
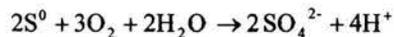
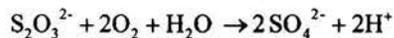
La bacteria azufre-oxidante es generalmente corta, es una barra gruesa de 0.5 a 1.0-3.0 μm . Son las bacterias aeróbicas y autotróficas, las que son capaces de sintetizar compuestos orgánicos complejos (proteínas, carbohidratos) de compuestos inorgánicos, aunque ellas no usen los compuestos orgánicos como nutrientes.

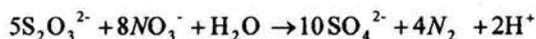
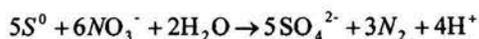
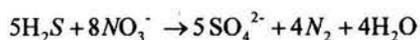
Son bacterias móviles debido a un flagelo polar único en colonias jóvenes, aunque esta condición se puede perder en colonias viejas, ellas no producen esporas y son generalmente presentadas como células aisladas. La temperatura óptima de crecimiento es entre 25 y 30° C, aunque pueden crecer en un intervalo de 10 a 37° C.

Las características metabólicas del *Thiobacillus* producen en el medio ambiente condiciones extremas de acidez.

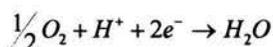
Generalmente estas bacterias trabajan en ambientes de calor y acidez tan hostiles que no se produce contaminación por otros organismos, excepto cuando se forman consorcios microbiológicos con bacterias sulfato reductoras (Brewis, 1996).

Algunas reacciones de oxidación del Thiobacillus





De las reacciones anteriores se observa que varios compuestos inorgánicos pueden ser microbiológicamente oxidados. En este proceso, muchas reacciones de oxidación son realizadas por medio de enzimas específicas acopladas a un sistema de transporte de electrón, donde el oxígeno juega el papel de receptor final por la reducción a agua:



El papel que desempeña el *Thiobacillus* en la producción de compuestos intermedios metaestables, aun no ha sido asociado con procesos de corrosión aeróbica, aunque al parecer algunos de esos compuestos son muy importantes en la corrosión anaeróbica del hierro.

Thiobacillus thiooxidans.

Una especie relacionada con procesos de corrosión es el *Thiobacillus thiooxidans*, que tiene la capacidad de oxidar 31g de azufre por gramo de carbono, valores de pH del orden de 0.5 son producidos en el medio, alcanzando condiciones extremadamente agresivas no solamente para el metal, sino también para concreto o estructuras de piedra.

El *T. thiooxidans* se parece al *T. ferrooxidans* por el medio ácido en el que se desarrolla y en su morfología, aunque en ésta los bastoncillos usualmente poseen un flagelo polar dando una movilidad mayor en comparación con la *T. ferrooxidans*; su crecimiento óptimo es a una temperatura cercana a los 30°C.

Esta bacteria se diferencia también de la *T. ferrooxidans* por que no presenta la capacidad de oxidar hierro.

El rango de pH óptimo para el crecimiento del *T. thiooxidans* es de 1 a 4, y se produce una importante cantidad de ácido sulfúrico que es capaz de decrecer el pH ambiental a 0.5.

Thiobacillus ferrooxidans

Otra de las bacterias que forman parte de ciclo del azufre en la naturaleza es una que tiene forma típica de bastoncillo, el *Thiobacillus ferrooxidans*, tiene un tamaño de célula de 0.3 a 0.5µm de diámetro y 1.0 a 1.7µm de longitud, es generalmente relacionada con la bacteria hierro-oxidante por su habilidad de oxidar compuestos inorgánicos ferrosos. Sus fuentes de energía son el hierro ferroso y el azufre reducido, también obtiene energía de la oxidación del thiosulfato. En ambientes naturales acidifican el agua con altos contenidos de hierro, y mucha de la literatura sobre esta bacteria es relacionada con procesos de biolixiviación. Es un autótrofo obligado.

Oxida prácticamente a todos los minerales sulfurados conocidos, por lo que tiene gran aplicación e importancia en Biohidrometalurgia y en la disolución de minerales. Crece en un intervalo de pH de 1.0 a 6.0 siendo el pH óptimo para alcanzar la máxima velocidad de crecimiento entre 2.0 y 2.5. De modo análogo, sobrevive en un intervalo de temperatura de 2° a 40° C, pero el más favorable es el de 28° a 35° C. Curiosamente, mientras que el *Thiobacillus ferrooxidans* crece en un medio de bajo pH, su pH citoplásmico interno está próximo al punto neutro y el gradiente de pH a través de la membrana citoplásmica del *Thiobacillus ferrooxidans* es uno de los mayores de todos los organismos vivos.

El *Thiobacillus ferrooxidans* prolifera, en cuestión de horas, dividiéndose en bastoncillos idénticos. Estos, a su vez, aumentan de tamaño y vuelven a dividirse y así continúa la proliferación en forma exponencial.

Normalmente, en un sistema en actividad, las poblaciones bacterianas alcanzan cifras de 10^9 a 10^{10} por milímetro de pulpa. Sin embargo, incluso con esta elevada densidad no hay pruebas de su presencia a simple vista.

Otras bacterias azufre-oxidantes

Una de las especies del género es el *Thiobacillus denitrificans* que es capaz de crecer anaeróbicamente usando nitratos como el aceptor final de electrón.

Otra especie frecuentemente asociada con procesos de corrosión son *Thiobacillus thioparus*, las cuales oxidan el tiosulfato a sulfato y azufre como el principal suministro de energía de la reacción.

Bacterias Sulfato Reductoras (BSR)

Las bacterias BSR juegan un importante rol en la corrosión biológica.

El ciclo del azufre es también formado por dos tipos de microorganismos capaces de reducir sulfato: (1) cuando el sulfato es usado como fuente de azufre para esta reducción a sulfuros orgánicos por un proceso metabólico llamado reducción asimilatoria de sulfato y (2) cuando el sulfato es usado como el aceptor final del electrón en la respiración anaeróbica, produciendo sulfuro de hidrógeno por la reducción desasimilatoria de sulfato. Uno de los miembros de este grupo de microorganismos es el *Desulfovibrio desulfuricans*, conocido como BSR causante de corrosión. Este es un anaerobio obligado (no tolera el oxígeno para sobrevivir y crecer) y heterótrofo que usa compuestos de carbono con bajo peso molecular (lactato, acetato, propionato) como fuente externa de carbono.

Las bacterias sulfato-reductoras (BSR) pueden ser consideradas como un grupo variado de bacterias relacionadas con varios aspectos fisiológicos y ecológicos. Algunas especies pueden ser alternativamente aceptoras de electrón del nitrato o fumarato, o incluso crecer fermentativamente, usando piruvato.

Formalmente, las BSR son taxonómicamente clasificadas en dos géneros: *Desulfovibrium* (bacteria no-espurulada) y *Desulfotomaculum* (bacteria espurulada), estos géneros abarcan 7 y 5 especies, respectivamente. Las fuentes de carbono son limitadas a lactato, piruvato y malato.

El género *Desulfovibrio* corresponde a barras curvadas, algunas veces presenta forma espiroidal estos microorganismos son anaerobios estrictos creciendo entre 25 y 44°C y con un rango de pH de 5.5 a 9.0. Sus dimensiones aproximadas son 0.5-1.0 µm de diámetro y 3.0-5.0 µm de longitud, generalmente son móviles debido a un flagelo polar.

Las BSR son bacterias heterotróficas, así que requieren una fuente externa de carbono orgánico, y la energía para su metabolismo es suministrada por la reducción de sulfato a sulfuro. En esta reacción, el sulfato reemplaza al oxígeno como el aceptor final del electrón. Como un resultado de esta reducción, importantes concentraciones de sulfuro de hidrógeno y mezclas de sulfuro son producidas.

La reducción desasimilatoria de sulfato por las BSR involucra la producción de varias reacciones y productos intermedios tales como sulfuros, tiosulfatos y tetratonatos. En este respecto, el sulfato o tetratonato pueden ser detectados en colonias de bacterias a varias concentraciones. Los productos intermedios de la reducción del sulfato pueden ser corrosivos para el hierro y sus aleaciones.

Bacterias Hierro-Oxidantes

Otros microorganismos relacionados con procesos de corrosión son los llamados hierro-oxidantes. Anteriormente se mencionaron las características del *Thiobacillus ferroxidans* puesto que ésta bacteria tiene la capacidad de oxidar hierro y azufre.

Estas bacterias tienen la característica de oxidar Fe^{2+} a Fe^{3+} , el cual generalmente precipita como hidróxido de hierro.

Como agentes causantes de la corrosión, están la familia *Caulobacteriaceae* y el género *Gallionella* y *Siderophacus*, una especie típica es *G. ferruginea*. Estos microorganismos se colocan en el remanente del sustrato por medio de un péndulo que puede presentar branquias o no. Son bacterias autotróficas.

Otro tipo de bacteria hierro-oxidante, perteneciente al orden de las *Clamidobacteriaceae*, estas son bacterias no coloreadas que tienen fundas formadas por una matriz orgánica impregnada con hierro o con óxidos de magnesio.

Dos géneros típicos de este orden son *Sphaerotilus* y *Leptothrix*. Estos crecen generalmente en agua de río, presentando esporas móviles éstas son:

- Una bacteria típica de este grupo es *Sphaerotilus natans* que generalmente crece en aguas contaminadas con altos contenidos orgánicos.
- La bacteria del género *Leptothrix* crece bien en agua de río con contenidos de hierro y dióxido de carbono.

Las fundas de esta bacteria tienen hidróxido de hierro y son coloreadas amarillo-café. Son microorganismos aeróbicos que crecen en un pH ligeramente alcalino.

Las *Crenothriaceae*, son otro grupo de bacterias hierro-oxidantes caracterizadas por delgadas fundas sin inclusiones minerales (con la excepción de sus bases) existen dos géneros típicos que son: *Crenothrix* y *Clonothrix*. Ellos crecen en agua de río estancada con materia orgánica suspendida. La importancia de este grupo de bacterias en procesos de corrosión está relacionada con la corrosión y obstrucción de tuberías de agua potable generadoras de energía hidroeléctrica, y en la producción y recuperación de aceite, entre lo más relevante.

Mecanismos de Biocorrosión

Los mecanismos clásicos de la biocorrosión pueden ser enlistados como sigue:

Mecanismo 1: Producción metabólica de compuestos agresivos que una vez producidos en el medio, éste cambia de inerte a corrosivo.

Debido a la amplia variedad de productos metabólicos derivados de la actividad microbiana, el primer mecanismo se subdivide como sigue:

1.- Producción de sustancias con propiedades surfactantes.

2.- Producción de ácidos inorgánicos por el género *Thiobacillus* (p ej. ácido sulfúrico).

3.- Producción de ácidos carboxílicos como productos metabólicos finales o por el escape de ácido tricarbóxico en el ciclo intermedio.

4.- Producción de iones de sulfuro como en el caso de las BSR.

La biocorrosión por *Thiobacillus* parece ser uno de los simples casos en que el metal es atacado por agentes biológicos. *T. thiooxidans*, *T. concretivorus*, y *T. ferrooxidans* pueden producir cantidades peligrosas de ácido sulfúrico y un remanente activo con un pH menor que 0.7 (equivalente a 5% de ácido sulfúrico). Bajo estas condiciones, los hierros colados o las estructuras de acero templado son severamente atacados. Varias reacciones de oxidación se han reportado para este género, involucrando muchos compuestos inorgánicos de azufre que son susceptibles a la oxidación microbiológica.

Compuestos intermedios metaestables como los oxianiones de azufre, no persisten en ambientes que contienen bacterias, sin embargo, algunos compuestos intermedios como el $S_4O_6^{2-}$ se pueden acumular hasta que el sustrato es completamente oxidado, pero el sobrevenir de la oxidación propicia la formación de ácido sulfúrico.

Se han hecho estudios electroquímicos comparativos de la picadura de acero templado en diferentes soluciones alcalinas que contienen sales con varios oxianiones de azufre, como los que se encuentran entre las etapas intermedias de la sulfato reducción por las BSR.

Como un sumario de estos mecanismos, en donde varios tipos de microorganismos y metabolitos son considerados en los casos de biocorrosión debido a la producción de metabolitos corrosivos, se muestran en la tabla 2.

Tabla 2.- Principales metabolitos corrosivos de diferentes microorganismos involucrados en la corrosión

Microorganismo	Metabolito corrosivo	Metal corroído	rango de pH
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	ácido sulfúrico	hierro, aceros	0.5-4.0
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	sulfuros, bisulfuros sulfuro de hidrógeno	hierro, acero templado acero inoxidable	5.5-9.0
<i>Hormoconis resiniae</i>	ácidos orgánicos	aluminio y sus aleaciones	2.5- 7.0
<i>Lactobacillus delbruckii</i>	ácidos orgánicos	acero inoxidable	-----

Mecanismo 2: Creación de celdas de aereación diferencial por el uso de oxígeno por la respiración microbiana o la alteración de los niveles de oxígeno simplemente por la presencia física de la colonia.

El segundo tipo de mecanismo, el cual es debido a la formación de celdas, está estrechamente relacionado con las características respiratorias de los microorganismos. Si se toma en cuenta solamente una colonia de bacterias, se forma una celda de aereación diferencial debido al crecimiento activo de los microorganismos, provocando bajos niveles de oxígeno bajo la colonia, mientras que la fuente de oxígeno sigue siendo inalterada en la parte externa.

Una celda electroquímica es formada y el área anaeróbica bajo la colonia actúa como un ánodo, mientras que la zona circundante con alta concentración de oxígeno actúa como una

área catódica. Una vez establecida la celda electroquímica y la colonia o depósito microbiológico crece en el bulk, la celda ya no desaparece, incluso con la muerte de la colonia, debido a que la barrera de oxígeno ha sido establecida.

Este mecanismo puede ser considerado como una de las principales causas de corrosión por la actividad microbiológica, pero no es una característica exclusiva de la biocorrosión. En ambientes acuosos naturales o industriales, la corrosión localizada sobre una superficie metálica es frecuentemente relacionada con celdas de aereación diferencial formadas por algún depósito en la superficie.

Desde un punto de vista electroquímico, se distinguen dos principales efectos de los microorganismos sobre los procesos de corrosión: actividad microbiológica sobre la reacción anódica y la actividad microbiológica sobre la reacción catódica.

Los efectos anódicos son realizados por:

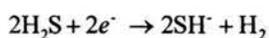
1.- La producción de metabolitos corrosivos y la producción de ácido orgánico por varias especies de hongos.

2.- La producción de metabolitos que aumentan la acción corrosiva de otros aniones presentes en el medio. Este es el caso para aniones de sulfuro producidos como una consecuencia de la reducción desasimilatoria de sulfatos por las BSR en condiciones anaeróbicas. Es bien conocido que los sulfuros desestabilizan la capa protectora de óxido sobre aceros templados, induciendo la iniciación de la picadura.

3.- La remoción de inhibidores de corrosión por la actividad metabólica de los microorganismos (p ej. aniones de fosfato usados por los microorganismos como fuente de fósforo). Se sabe que los aniones de fosfato son utilizados como inhibidores de la corrosión en varios metales y aleaciones.

Los efectos catódicos son realizados por:

1.- La producción de un reactivo catódico como el H₂S en el caso de las BSR. El H₂S puede reaccionar catódicamente de acuerdo a:



Protones de metabolitos ácidos producidos por bacterias o por hongos pueden ser usados como reactivos catódicos.

2.- La remoción de reactivos catódicos. Este efecto causará con respecto al mecanismo anterior, un efecto contrario. El ejemplo más común es el consumo de oxígeno por la respiración microbológica. Generalmente, este efecto es contrario con la producción de otros reactivos catódicos tales como protones.

3.- Los iones que reaccionan en el medio ambiente provocan un efecto indirecto sobre la reacción catódica, ya que la hacen más rápida. Este es el caso de los sulfuros, que se combinan con cationes de hierro para formar sulfuro de hierro. Este compuesto es catódico para el hierro y estimula la reacción catódica.

Mecanismo 3: Alteración microbiana de películas pasivas, películas de productos de corrosión o capas protectoras sobre la superficie metálica.

Mecanismo 4: Consumo metabólico de los inhibidores de la corrosión presentes en el medio.

Mecanismo 5: Aceleración de las reacciones de los procesos de corrosión (anódica o catódica) por efecto de la polarización.

Acero Estructural

Propiedades de un acero estructural

Tabla 3: Composición química típica de un acero estructural

% elemento	C	Si	Mn	P	S	Ni	Cu
A.R. %	0.26	0.06	1.50	0.035	0.035	0.10	0.3
C.C. %	0.10	0.08	0.35	0.035	0.04	0.10	0.3

Tabla 4: Propiedades físicas de un acero estructural

Prueba	A.R.	C.C.
Resistencia a la Tensión (kg/cm^2)	5000	3400
Límite de Fluencia (kg/cm^2)	3500	2100
Alargamiento en 5.1 cm	22%	28%
Límite de Fluencia en Compresión (kg/cm^2)	3500	2100
Esfuerzo básico permisible a la Tensión (kg/cm^2)	2130	1260
Módulo de Elasticidad	2,100,000 (kg/cm^2)	2,100,000 (kg/cm^2)
Coefficiente de Expansión por °C	0.000012	0.000012

A.R. = Alta Resistencia

C.C. = Calidad Comercial

SITIO DE ESTUDIO

Antecedentes

En 1968 la producción de DDT a cargo de la empresa Fertimex fue controlada por el gobierno; fue también la época cuando se alcanzó la mayor producción de plaguicidas organoclorados en México con más de 80,000 toneladas anualmente. La empresa Fertimex, ubicada en Salamanca, Guanajuato, fue privatizada en 1991 continuándose la producción y exportación de DDT ahora a cargo de Tekchem, quién estuvo obligada a satisfacer la demanda de la Secretaría de Salud, al ser esto parte de las condiciones de privatización de Fertimex. La producción controlada del DDT se tradujo en una mayor disponibilidad y bajo costo. Sin embargo, la producción se mantuvo en alrededor de 25,000 ton/año. Tekchem sufrió el 12 de septiembre de 2000 una fuga de 10 toneladas de malatión afectando a cerca de 500 personas y contaminando cuerpos de agua cercanos.

Tekchem, en Salamanca, Gto.

El uso indebido de plaguicidas en un mal generalizado en nuestro país, como en muchos otros desarrollados y en vías de desarrollo. La aplicación de estos tóxicos, además de ser intrínsecamente nocivos para la salud y el ambiente, muchas veces se realizan fuera de los lineamientos que dicta la legislación mexicana. Específicamente, intereses económicos y políticos promueven el uso excesivo de estos tóxicos incluso cuando se sabe que ello no contribuye a mejorar la calidad y cantidad de los cultivos, e incluso menospreciando sus impactos en la salud.

Muchas veces la compra de plaguicidas y su aplicación se deciden antes de saber si éstos serán requeridos. Estos excesos no sólo se dan en el cultivo de alimentos, sino también en el de flores y plantas de ornato, como sucede en el Estado de México (Villa Guerrero y Tenancingo) donde existen altos índices de malformaciones y problemas en la salud de la población. Muchos de los plaguicidas empleados en México hasta ahora han sido prohibidos en otros países a causa de su elevada toxicidad, algunos de los cuales continúan en el mercado, como el 2,4-D, pentaclorofenol (PCP) y dicofol.

La empresa Tekchem (antes Fertimex) ha sido la principal productora intencional y legal de Compuestos Orgánicos Persistentes (COP) en México y América Latina. Durante décadas, ha controlado y promovido la producción de plaguicidas como DDT, BHC (hexaclorobenceno), toxafeno y endrin, hoy en día todos ellos destinados a desaparecer gracias al Convenio sobre COP.

Actualmente, Tekchem (Fig. 9) ha dejado de producir muchos de estos compuestos para dedicarse a la producción de otros, principalmente organofosforados como el malatión. Además de la contaminación acumulada que ha ocasionado al ambiente y a su entorno inmediato durante años, y a la falta de seguridad en sus operaciones, continúa siendo un ejemplo del tipo de tecnología que es necesario erradicar: obsoleta, contaminante y poco costeable.



Fig. 9.-Tekchem, en Salamanca, Gto.

UBICACIÓN



Fig. 10: Ubicación de la Ciudad de Salamanca y el Río Lerma en el estado de Guanajuato.

La Ciudad de Salamanca Gto. limita al Norte con los municipios de Irapuato y Guanajuato, al Noreste con San Miguel de Allende, al Este con Santa Cruz de Juventino Rosas y Villagrán, al Sureste con Cortazar y al Sur con Jaral del Progreso y Valle de Santiago, y al Oeste con los municipios de Irapuato y Pueblo Nuevo. Su altura sobre el nivel del mar es de 1,721 mts. Siendo la población total del municipio de Salamanca de 221,125 habitantes, Fig. 10



Fig. 11: Ríos del estado de Guanajuato.

"Río Lerma-Salamanca"

Drena una superficie en el estado de 824.75 km². Tiene una pequeña porción que le corresponde a Michoacán pero prácticamente carece de importancia, ya que casi todo su aporte se localiza en Guanajuato. Tiene únicamente dos subcuencas intermedias: "Presa Solís-Salamanca" y "Salamanca-Río Angulo", Fig. 11.

CAPÍTULO III

DESARROLLO EXPERIMENTAL

1ª FASE

Esta primera fase se desarrolló en el Laboratorio de Metalurgia Extractiva de la Facultad de Química, UNAM.

MATERIAL Y EQUIPO

El material y equipo que se utilizó en el desarrollo experimental consiste en:

- Matraz Erlenmeyer
- Pipetas
- Papel pH
- Acero estructural
- Acero estructural corroído (en las aguas y sedimento del Río Lerma tramo Salamanca)
- Sedimento del Río Lerma tramo Salamanca
- Caldo de cultivo 9K
- Autoclave
- Refrigerador
- Incubadora
- Microscopio (para realizar el conteo de las bacterias)

TOMA DE MUESTRAS

En el muestreo se tomaron muestras de agua y sedimento en las márgenes del río Lerma a lo largo de su travesía por la Ciudad de Salamanca, para este muestreo se ubicaron principalmente los sitios en donde se fijaron las estructuras metálicas (puentes) así como los probables aportes de contaminantes (Fig.12,13,14,15,16, 17 y 18)



Fig. 12.- Punto de muestreo en la base del puente.



Fig. 13.- Punto de muestreo en efluente de la Compañía Tekchem.



Fig. 14.- Punto de Muestreo en el drenaje de la refinería de Salamanca.



Fig. 15.- Punto de Muestreo de aguas y sedimentos en el margen contrario del drenaje de la refinería de Salamanca.

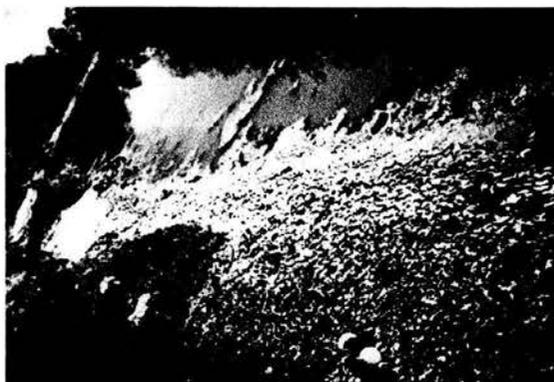


Fig. 16 .- Punto de muestreo de agua y sedimento posterior al efluente de la Compañía Tekchem.

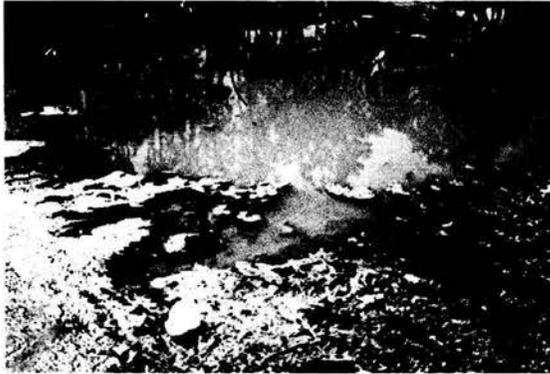


Fig. 17 .- Punto de muestreo de agua .



Fig. 18 .- Punto de muestreo de agua y sedimento posterior al drenaje de la refinera y previo al paso por el puente peatonal, es notoria la depositación de hidrocarburos en las márgenes del río.

PRUEBAS EN LABORATORIO.

Con la finalidad de encontrar la fuente de corrosión en la estructura, se procedió a hacer pruebas controladas utilizando probetas de acero estructural de composición semejante al utilizado en la construcción del puente.

Se utilizó acero estructural con la siguiente composición química:

Tabla 5: Análisis químico del acero estructural utilizado.

elemento	C	Si	Mn	P	S	Cr	Mo	Ni
%	0.1469	0.1641	0.543	0.0136	0.0295	0.0559	0.0173	0.0930

elemento	Co	Cu	Nb	Ti	V	Pb	Fe	Al
%	0.0096	0.3741	<0.0000	0.0020	<0.0000	0.0057	>98.5	0.0105

Inicialmente se colocaron muestras de agua y sedimento por separado y juntas en recipientes de plástico, para después introducir una probeta de prueba, estas se dejaron por un intervalo de tiempo de 3 meses al igual de dos pruebas testigo una en agua limpia y otra en basalto molido.

Transcurrido el tiempo previsto se procedió a hacer cortes transversales para observar al microscopio la presencia de corrosión en la estructura siendo esta positiva (Fig. 19, 20, 21, 22 y 23)

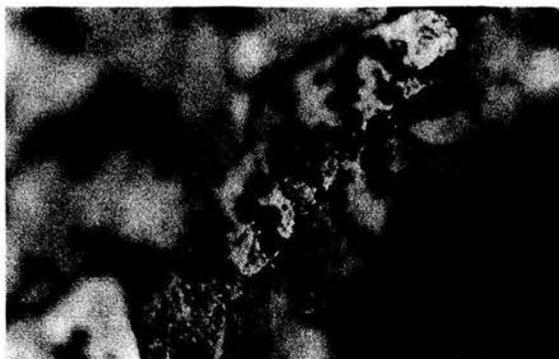


Fig. 19.- Corrosión en probeta sumergida en agua del Río Lerma.



Fig. 20.- Corrosión en probeta sumergida en agua del Río Lerma.

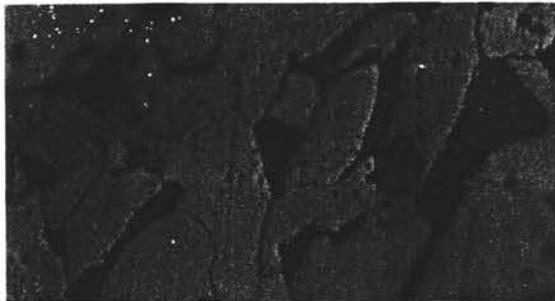


Fig. 21.- Corrosión en probeta sumergida en sedimento del Río Lerma.

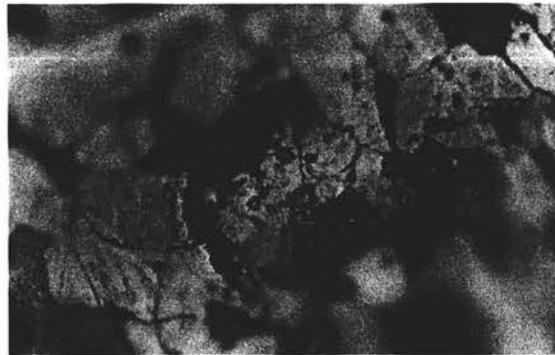


Fig. 22.- Corrosión en probeta sumergida en sedimento del Río Lerma.



Fig. 23.- Probeta sumergida en la mezcla sedimento- agua del Río Lerma.

La identificación y el mecanismo para la identificación y desarrollo de los microorganismos se hizo mediante un estudio específico como a continuación se indica.

Preparación de las muestras:

Con el fin de hacer crecer las bacterias hierro-oxidantes presentes en las muestras de acero corroídas para su posterior análisis, de las muestras de acero corroído, se cortaron dos pequeños pedazos y se colocaron cada uno dentro de un matraz Erlenmeyer, también se cortaron dos pedazos de acero no corroído y se colocaron cada uno dentro de un matraz Erlenmeyer, conteniendo 100 mL de caldo de cultivo 9K.

El medio 9K consiste en una solución que tiene las condiciones químicas propicias para un buen desarrollo de las bacterias; dicha solución se preparó con los siguientes reactivos:

- 3 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- 0.5 g/L K_2HPO_4
- 0.5 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 0.013 g/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

solamente se prepararon 500 mL y se ajustó el pH a 2.

De los 500 mL se tomaron 250 mL y se les agregó 11.055g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, para tener una solución rica en Fe(II) que sirve como fuente de energía a las bacterias y de nuevo se le ajustó el pH a 2.

Las muestras se prepararon como sigue:

En el primer matraz, se introdujo una muestra de acero sin atacar en 100 mL de medio 9K "1.1".

En el segundo matraz, se introdujo una muestra de acero atacada en 100 mL de medio 9K "1.2".

En el tercer matraz se introdujo una muestra de acero sin atacar en 100 mL de medio 9K + Fe(II) "1.3".

En el cuarto matraz se introdujo una muestra de acero atacada en 100 mL de medio 9K + Fe(II) "1.4".

Los cuatro matraces se taparon con algodón y se colocaron dentro de un incubador orbital a 35° C y a 170 rpm, monitoreando periódicamente el pH y número de bacterias.

Ante la posibilidad de que las bacterias que aparecen al microscopio sean de contaminación, se procedió a preparar otro cultivo, pero ahora se esterilizó todo el material que se utilizó, excepto las muestras de acero y sedimento (excepto la muestra 2.5) en una autoclave.

Las soluciones que se utilizaron (medio 9K, medio 9K + Fe(II), agua destilada y ácido sulfúrico al 10% fueron esterilizadas y las pipetas para la toma de muestras que se analizaron en el microscopio, fueron nuevas.

Se colocaron, como en el primer cultivo, cuatro muestras de acero de igual manera y en la misma secuencia que en el cultivo anterior y además se agregaron otros tres matraces que contienen sedimento en el cual estuvo sumergida la probeta oxidada.

La secuencia de los matraces fue la siguiente:

Matraz (1) "2.1": muestra de acero no oxidada + 100 mL de medio 9K.

Matraz (2) "2.2": muestra de acero oxidada + 100 mL de medio 9K.

Matraz (3) "2.3": muestra de acero no oxidada + 100 mL de medio 9K + Fe(II).

Matraz (4) "2.4": muestra de acero oxidada + 100 mL de medio 9K + Fe(II).

Matraz (5) "2.5": 1 gramo de sedimento + 100 mL de medio 9K (este matraz fue esterilizado con todo y sedimento).

Matraz (6) "2.6": 1 gramo de sedimento + 100 mL de medio 9K.

Matraz (7) "2.7": 1 gramo de sedimento + 100 mL de medio 9K + Fe(II).

Nota: los matraces fueron esterilizados antes de que se les introdujeran las muestras de acero y sedimento, a excepción del matraz (5) que fue esterilizado conteniendo el sedimento.

Al realizar el conteo, se mostraron una cantidad excesiva de bacterias en el cultivo y en la muestra "2.5" no debería presentar bacterias ya que fue esterilizada, lo cual probablemente se debió a que las condiciones de esterilización no fueron las adecuadas para eliminar las bacterias presentes, o que dichas bacterias resistieron las condiciones de temperatura y presión aplicadas en la autoclave.

Debido a estos resultados inesperados se realizó un tercer cultivo, pero ahora no se esterilizó ningún material, se prepararon soluciones nuevas y se utilizaron pipetas nuevas para la toma de muestras que se analizaron en el microscopio.

Se analizaron dos nuevas muestras de agua de río extraída de la misma zona de la cual se extrajo el sedimento.

La secuencia de las muestras fue la siguiente:

- Matraz(1) "3.1": muestra de acero no oxidada + 100 mL de medio 9K.
- Matraz(2) "3.2": muestra de acero oxidada + 100 mL de medio 9K.
- Matraz(3) "3.3": muestra de acero no oxidada + 100 mL medio de 9K + Fe(II).
- Matraz(4) "3.4": muestra de acero oxidada + 100 mL de medio 9K + Fe(II).
- Matraz(5) "3.5": 1 gramo de sedimento + 100 mL de medio 9K.
- Matraz(6) "3.6": 1 gramo de sedimento + 100 mL de medio 9K + Fe(II).
- Matraz(7) "3.7": 1 mL de agua + 99 mL de medio 9K.
- Matraz(8) "3.8": 1 mL de agua + 99 mL de medio 9K + Fe(II).

2ª FASE

Nuevamente al realizar el conteo, la cantidad de bacterias presentes no concuerda con la cantidad de los dos cultivos anteriores, además las muestras 3.7 y 3.8 no mostraron bacterias. Por lo que se decidió continuar el trabajo en el Instituto de Investigaciones Biomédicas cambiando el medio de cultivo, para realizar la caracterización de las bacterias.

Se utilizó medio de cultivo TSA para el análisis de las bacterias.

El material y equipo que se utilizó en esta etapa fue:

- Medio de cultivo Agar Sangre (TSA = Tripticaseina Agar Soya)
- Medio 71
- Medio MIO
- Tubos de ensayo
- Cajas petri
- Cuarto frío
- Incubadora
- Autoclave
- Pequeñas muestras de acero estructural
- Algodón
- Alcohol

El Agar Sangre (TSA) al 5% con base de Trypticaseína-Soya es un medio de uso general que permite el crecimiento tanto de microorganismos exigentes como no exigentes, que incluyen bacterias aerobias y anaerobias.

Fórmula aproximada para preparar TSA 40 g/L en agua purificada:

Peptona de Caseína	15.0g
Peptona de soya	5.0g
Cloruro de sodio	5.0g
Agar	15.0g
PH final	7.3+/- 0.2

Aislamiento de cepas

Se preparó un litro de medio de cultivo TSA, vertiendo 40 gramos de dicho medio en polvo en un matraz y posteriormente se aforó a un litro, se esterilizó en la autoclave y se vertieron aproximadamente 20 ml en cajas petri, posteriormente se metieron las cajas petri con el medio de cultivo a un cuarto frío para que solidificara el medio de cultivo.

De todas las muestras de los tres cultivos realizados en el Laboratorio de Metalurgia Extractiva, se tomaron 0.2 ml y se vertieron en las cajas petri conteniendo el caldo de cultivo TSA.

Se utilizaron dos cajas petri por cada muestra a analizar; una fue sellada con cinta de aislar elástica y la otra no fue sellada, para posteriormente ser introducidas en la incubadora a 37° C por 72 horas.

Después de esta etapa, se preparó nuevamente medio de cultivo TSA, se esterilizó y se vertió en tubos de ensayo, posteriormente se metieron inclinados al cuarto frío para que el medio solidifique diagonalmente, esto con el fin de que en estos tubos se siembren las cepas aisladas por duplicado, es decir, en cada dos tubos se siembra una cepa, y de aquí obtener las cepas para su posterior manejo.

Se realizó la separación de las colonias (pase) obtenidas de las cajas petri mantenidas en la incubadora por 72 horas; tomando una pequeña muestra de la colonia y sembrándola en otra caja petri y también en los tubos de ensayo con medio de cultivo fresco, para que la colonia seleccionada crezca aislada de las demás colonias y así tener todas las cepas identificadas por separado.

Tinción de Gram:

La Tinción de Gram se utiliza para identificar las bacterias Gram Positivas y las bacterias Gram Negativas.

La Tinción de Gram consiste en teñir un extendido bacteriano fijado al calor sobre un portaobjetos con colorante de Violeta Cristal. Todos los organismos toman este colorante. Luego se cubre el extendido con la solución yodada de Gram (I₂-KI al 3% en agua o un buffer débil, pH 8, con el objeto de neutralizar la acidez provocada por el yodo). Después de un enjuague con agua y una decoloración con acetona, se lava el preparado minuciosamente en agua y se contratiñe con un colorante rojo, generalmente safranina. El preparado teñido se enjuaga entonces con agua, se seca y se examina bajo el microscopio óptico. Las bacterias Gram Positivas se tiñen de azul, mientras que las bacterias Gram Negativas se tiñen de rojo.

Utilizando portaobjetos de vidrio se realizaron las tinciones de Gram de todas las cepas aisladas (ver tabla 9).

La designación de las cepas consiste en lo siguiente:

El primer número designa de cual de los tres cultivos realizados en la primera fase se trata, el segundo número designa la muestra correspondiente del cultivo del cual se esté hablando y el tercer número designa la cepa aislada.

Por ejemplo: 3.6.4 se refiere al cultivo III, la muestra 6 y la cepa aislada número 4.

1.1.16 se refiere al cultivo I, la muestra 1 y la cepa aislada número 16.

etc.

Crecimiento de cepas que utilizan azufre

Posteriormente se preparó solución MEDIO 71 (*medio thiobacillus ferrooxidans con tiosulfato*) para obtener las cepas que utilizan el azufre para su crecimiento.

La solución consiste de:

KH_2PO_4	3.00 g/l.
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0.50 g/l.
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	3.00 g/l.
$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0.25 g/l.
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	5.00 g/l.

Se prepararon 250 ml de medio sin tiosulfato, se ajustó el pH a 3 y se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos, el tiosulfato se esterilizó por separado por medio de filtración y después se adicionó a la demás solución. Se preparó el tiosulfato con una concentración de 20 g/100 ml.

También se esterilizaron tubos de ensayo con tapón de algodón.

A los 250 ml esterilizados se les agregó 6 ml de solución de tiosulfato esterilizado por filtración para cumplir con la relación de reactivos que se deben de agregar para tener la solución completa.

Con una pipeta estéril se agregaron 6 ml de Medio 71 con tiosulfato a cada uno de los tubos esterilizados.

Los tubos esterilizados se inocularon por duplicado con cada una de las cepas aisladas desarrolladas en el medio TSA y se dejaron en la incubadora a una temperatura de 37°C

Se realizó el monitoreo del crecimiento de las cepas cada tercer día.

El signo (+) indica que la cepa está creciendo, el signo (-) indica que no se observa crecimiento en la cepa y el signo (?) indica que no se puede determinar si la cepa está creciendo o no. (ver tabla 10 de resultados).

Ya una vez aislada la bacteria potencial que provoca la corrosión en el acero, se procedió a determinar la movilidad de dicha bacteria, para esto se preparó **medio MIO**, que se utiliza para checar la movilidad de bacterias, dicho medio consiste en:

	g/L
Extracto de Levadura	3.0
Peptona de Gelatina	10.0
Peptona de Caseína	10.0
L-Ornitina	5.0
Dextrosa	1.0
Agar	2.0
Púrpura de Bromocresol	0.02
pH final = 6.5	

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

RESULTADOS DE LA PRIMERA FASE (Facultad de Química).

Obtención de microorganismos Ferrooxidantes y Sulfooxidantes

Cultivo I:

Después de dos meses de iniciado el cultivo, se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 6

Muestra	Bacterias	pH
1.1	0-2	3.83
1.2	3-4	3.97
1.3	20-35	2.15
1.4	15-19	2.06

Cultivo II:

Después de tres semanas de iniciado el cultivo, se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 7

Muestra	Bacterias	pH
2.1	0-1	4.7
2.2	0-2	4.71
2.3	1-5	3.54
2.4	30-40	3.45
2.5	40-50	2.89
2.6	55-65	2.96
2.7	50-60	2.05

Cultivo III:

Después de tres semanas de iniciado el cultivo, se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 8

Muestra	Bacterias	pH
3.1	0-1	4.66
3.2	0-2	4.71
3.3	10-15	3.43
3.4	4-7	3.47
3.5	55-65	2.41
3.6	60-70	2.05
3.7	0	2.38
3.8	0	2.44

RESULTADOS DE LA SEGUNDA FASE (Instituto de Investigaciones Biomédicas)

Crecimiento de Colonias de Bacterias en Medio TSA

De las cajas petri con el caldo de cultivo TSA que se introdujeron a la incubadora por 72 horas se obtuvieron los siguientes resultados:

Nota: c/c → caja petri aislada con cinta de aislar

s/c → caja petri que no fue aislada

Cultivo I.

Muestra:

1.1 c/c se observan tres tipos de colonias (crecimiento abundante)

1.1 s/c se observan tres tipos de colonias

1.2 c/c hay tres tipos de colonias (crecimiento moderado)

1.2 s/c hay dos tipos de colonias (poco crecimiento)

1.3 c/c hay un tipo de colonia (crecimiento bajo)

1.3 s/c la colonia muestra la misma coloración que la anterior pero es más abundante

1.4 c/c tipo de colonia similar a la anterior

1.4 s/c mismo tipo de colonia (un poco más abundante)

Cultivo II.

Muestra:

2.1 c/c hay tres tipos de colonias (crecimiento bajo)

2.1 s/c hay tres tipos de colonias (amarillo, amarillo mas intenso y color rojizo)

si se muestra un cambio significativo entre las dos muestras

2.2 c/c hay un tipo de colonia (muy abundante)

2.2 s/c hay dos tipos de colonias (la misma que 2.2 c/c con crecimiento poco abundante y la otra con poco crecimiento)

2.3 c/c hay un tipo de colonia (rojiza)

2.3 s/c hay un tipo de colonia (rojiza)

no se observa cambio significativo entre las dos muestras

2.4 c/c hay dos tipos de colonias (amarilla con crecimiento moderado y rojiza con poco crecimiento)

2.4 s/c colonia rojiza con muy poco crecimiento

2.5 c/c no se observa ninguna colonia

2.5 s/c no se observa ninguna colonia

2.6 c/c se observa un tipo de colonia entre amarilla y rojiza con muy poco crecimiento

2.6 s/c hay un tipo de colonia (amarillo tenue) con muy poco crecimiento

2.7 c/c hay dos tipos de colonias (amarillo claro y amarillo un poco más intenso, ambas con crecimiento moderado)

2.7 s/c hay dos tipos de colonias (amarillo claro igual que la anterior y la otra con un color amarillo intenso con poco crecimiento).

Cultivo III.

Muestra:

3.1 c/c se observa un tipo de bacteria (amarillo claro) con crecimiento abundante; se observan puntos rojizos

3.1 s/c se observa un tipo de bacteria (amarillo intenso) con crecimiento abundante; se observan pequeños puntos rojizos

3.2 c/c hay tres tipos de colonias (amarillo muy claro con crecimiento moderado, amarillo un poco mas intenso con crecimiento moderado y color amarillo-verdoso con bajo crecimiento)

3.2 s/c hay dos tipos de colonias (amarillo intenso con crecimiento alto y amarillo-verdoso con poco crecimiento)

3.3 c/c hay un tipo de colonia (amarillo con crecimiento bajo)

3.3 s/c hay un tipo de colonia (misma que 3.3 c/c pero con menor crecimiento)

3.4 c/c hay un tipo de colonia (círculos amarillos con crecimiento bajo)

3.4 s/c hay dos tipos de colonias con bajo crecimiento

3.5 c/c no se observan colonias

3.5 s/c no se observan colonias

3.6 c/c hay dos tipos de bacterias (amarillo claro con bajo crecimiento y color rojizo con crecimiento moderado)

3.6 s/c no se observan bacterias

3.7 c/c hay un tipo de colonia (amarillo claro con crecimiento bajo)

3.7 s/c no se observan colonias.

Caracterización de Bacterias por Tinción de Gram

De las tinciones de Gram se obtuvo lo siguiente:

Tabla 9

Cepa	Tipo de Cepa
1.1.16	Bacilos cortos Gram Negativos
1.1.18	Cocobacilos Gram Positivos
1.1.19	Bacilos cortos Gram Negativos
1.4.15	Bacilos Gram Positivos
2.1.6	Bacilos Gram Positivos
2.1.20	Bacilos cortos Gram Negativos
2.2.1	Bacilos Gram Positivos
2.2.2	Cocobacilos Gram Negativos
2.2.3	Bacilos Gram Positivos
2.2.9	Bacilo muy pequeño Gram Negativo
2.2.9	Bacilo largo Gram Positivo (en cadena)
2.2.10	Cocobacilo (muy pequeño) Gram Negativo
2.6.14	Bacilos largos Gram Negativos
2.7.7	Cocobacilo (capsulado) Gram Negativo
3.1.8	Bacilo Gram Positivo
3.2.12	Bacilo Gram Positivo
3.2.13	Bacilo Gram Positivo
3.4.11	Bacilo irregular (contaminado) Gram Negativo
3.6.4	Cocobacilo Gram Negativo
3.6.5	Cocobacilo (posiblemente capsulado) Gram Negativo
3.7.17	Bacilos Gram Positivos

Crecimiento de microorganismos Gram Negativos en Medio 71, optimización del crecimiento y selección de microorganismos sulfooxidantes.

Tabla 10: resultados de los tubos con **Médium 71**

Cepa	Lecturas		
	1ª	2ª	3ª
1.1.16	+	+/-	-
1.1.18	+	-	-
1.1.19	-	-	-
1.4.15	+	+	+
2.1.6	+	-	-
2.1.20	+	+	-
2.2.1	+	+	++
2.2.2	-	-	-
2.2.3	+	++	++
2.2.9	+	++	+
2.2.10	+	-	-
2.6.14	+	++	+++
2.7.7	-	-	-
3.1.8	+	-	-
3.2.12	+	+/-	-
3.2.13	+	-	-
3.4.11	-	-	-
3.6.4	+	++	++
3.6.5	-	-	-
3.7.17	+	+	+

De acuerdo a las lecturas anteriores se observa que las cepas: 1.415, 2.21, 2.23, 2.29, 2.614 y 3.64 alcanzan un buen crecimiento, por lo tanto, se prepararán nuevamente por duplicado estas cepas para introducirlas a diferentes temperaturas, a 37°C y a 30°C.

Las siguientes lecturas son de las cepas que se incubaron a 30°C.

Comportamiento de la cepa aislada en Medio 71 con tiosulfato, Pirita (FeS_2), azufre y acero estructural.

Se puso a prueba la cepa 2.6.14 utilizando pirita (FeS_2) y azufre de la siguiente manera.

Se preparó solución MEDIO 71 con tiosulfato pH=5 y se vació la solución en cuatro tubos de ensayo, así mismo se preparó la misma solución pero con pH=8 y se vació en otros cuatro tubos.

La pirita se introdujo a dos tubos que contienen solución sin tiosulfato pH=5 y se hizo lo mismo a otros dos tubos que contienen la misma solución pero a pH=8, se esterilizaron y posteriormente se inocularon.

Se realizó la misma operación con azufre.

Los tubos que se introdujeron a la incubadora a 30°C son:

Dos tubos con solución M. 71 con tiosulfato a pH=5.

Dos tubos con solución M. 71 con tiosulfato a pH=8.

Un tubo con solución M. 71 sin tiosulfato a pH=5, conteniendo pirita.

Un tubo con solución M. 71 sin tiosulfato a pH=8, conteniendo pirita.

Un tubo con solución M. 71 sin tiosulfato a pH=5, conteniendo azufre.

Un tubo con solución M. 71 sin tiosulfato a pH=8, conteniendo azufre.

El procedimiento anterior se repitió a 37°C .

Se obtuvieron lecturas de cada tercer día a 30°C y a pH=5 (Tabla 13).

Tabla 13

Medio 71

Lecturas

	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
Thiosulfato	-	-	-	+
Azufre	-	-	-	+
Pirita	-	-	(+)	?

Se obtuvieron lecturas de cada tercer día a 30°C y a pH=8 (Tabla 14).

Tabla 14

Medio 71

Lecturas

	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
Thiosulfato	-	(+)	-	?
Azufre	+	+	-	+
Pirita	-	-	-	?

Se obtuvieron lecturas de cada tercer día a 37°C y a pH=5 (Tabla 15).

Tabla 15

Medio 71

Lecturas

	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
Thiosulfato	-	-	(+)	+
Azufre	-	-	+	+
Pirita	-	-	-	?

Se obtuvieron lecturas de cada tercer día a 37°C y a pH=8 (Tabla 16).

Tabla 16

Medio 71

Lecturas

	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
Thiosulfato	-	+	(+)	-
Azufre	-	++	+	+++
Pirita	-	?	-	?

Crecimiento de microorganismos sulfooxidantes.

Se preparó nuevamente medio 71 a pH=3 y pH=5, y se realizó nuevamente el procedimiento anteriormente descrito pero sin tomar en cuenta la pirita.

Se obtuvieron lecturas de cada tercer día a 30°C y a pH=3 (tabla 17).

Tabla 17

Medio

Lecturas

	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a
Thiosulfato	-/+	-/+	-/+	-	+	+	+
Azufre	-	-	-	+	+	++	++

Se obtuvieron lecturas de cada tercer día a 30°C y a pH=5 (Tabla 18).

Tabla 18

Medio 71

Lecturas

	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6a	7 ^a
Thiosulfato	-/+	+	+	-	-	+/-	-
Azufre	-	-	-	+	++	++	++

Se obtuvieron lecturas de cada tercer día a 37°C y pH=3 (Tabla 19).

Tabla 19

Medio **Lecturas**

	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a
Thiosulfato	-/+	-/+	-/+	-/+	-	-	-
Azufre	-	-	-	-/+	-	-	-

Se obtuvieron lecturas de cada tercer día a 37°C y pH=5 (Tabla 20).

Tabla 20

Medio **Lecturas**

	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a
Thiosulfato	-/+	+	+	+	-	-	-
Azufre	-	-	-	-/+	+	+/-	+/-

De las tablas 17 y 18 se observa que los mejores resultados de crecimiento de la bacteria se dan a 30° C, por lo tanto se preparó solución con azufre a pH = 5, y dicha solución se vertió en tubos de ensayo, para después introducir en ellos pequeñas muestras de acero para monitorear el comportamiento de las bacterias (Fig. 24).



Fig. 24.- Muestras de acero con tiosulfato y azufre

A los tres días se analizaron los tubos a los cuales se les vertió el **medio MIO** para checar la movilidad de la bacteria, y al parecer la bacteria no es móvil.

Una semana después se observa que la cepa está adherida a la superficie del acero (Fig.25).



Fig. 25.- Muestras de acero con la cepa adherida.

ANÁLISIS DE RESULTADOS:

A partir de las primeras observaciones realizadas en las probetas, se pudo comprobar una corrosión no facetada sino puntual, lo que permitió suponer una actividad microbiana, a partir de lo cual se realizó todo el resto del trabajo experimental dividiéndose en etapas.

En la primera fase de la parte experimental, se hizo la suposición de que el microorganismo que está provocando la corrosión del acero es el *Thiobacillus ferroxidans*, por lo tanto se seleccionó un medio de cultivo propicio para el crecimiento de dicho microorganismo, así como también se seleccionaron condiciones óptimas de pH y temperatura, pH=2 y 35°C.

Después de varias semanas se observa en los tres cultivos que hay un crecimiento en la población de microorganismos, lo cual nos da el primer indicio de que dicho microorganismo si se encuentre presente en el acero.

En la segunda fase de la parte experimental se trabajó con los microorganismos obtenidos en la primera fase, pero se utilizó un nuevo medio de cultivo que provoca el crecimiento de todo tipo de bacterias, este medio de cultivo es el TSA.

Después de utilizar el medio TSA, crecieron 20 tipos de bacterias y posteriormente se procedió a separar las cepas para determinar cuál o cuáles utilizan azufre para su crecimiento. Dándole así continuidad a la suposición hecha en la primera fase, ya que el *Thiobacillus ferroxidans* además de ser hierro-oxidante, también es azufre-oxidante, y así también dar validez a la teoría de que se encuentren presentes en el acero otras bacterias azufre-oxidantes.

Para dicho fin se utilizó Medio 71 con thiosulfato, el cual tenía pH=3, y ya inoculado el medio se introdujo a la incubadora a 37°C.

Después de varios días se observó que de las veinte cepas aisladas, solamente seis crecieron en el medio 71, por lo que se preparó nuevamente medio 71 a pH=3 pero ahora las cepas se introdujeron en dos incubadoras a diferentes temperaturas, a 30°C y a 37°C.

Nuevamente se realizó el monitoreo y se observó que solamente cuatro cepas crecieron, pero de las cuatro cepas que crecieron, dos son Gram Positivas y una está contaminada, por lo que finalmente sólo se trabajó con una.

Dicha cepa se denominó como 2.6.14, y fue sometida a prueba con medio 71 a pH=3 y pH=8 con thiosulfato, Pirita (FeS_2), y azufre.

Al realizar el monitoreo se descartó la Pirita ya que no se pudo determinar si la cepa creció o no y por lo tanto sólo se analizaron los resultados con thiosulfato y azufre.

Se observa de las tablas 17 y 18 que la bacteria obtiene un mayor crecimiento en azufre a 30°C tanto a pH=3 como a pH=5, lo cual concuerda con la teoría de que el género *Thiobacillus* crece en un intervalo de temperatura de 25 a 30°C y un pH de 1 a 6.

Después de haber preparado medio 71 con azufre a pH=5, se vertió en tubos de ensayo junto con una pequeña muestra de acero y posteriormente inoculados con la cepa aislada, una semana después de haberlos introducido en la incubadora a 30°C, se observa que la cepa está adherida a la superficie del acero (figura 25).

Con respecto a la movilidad de la cepa, la prueba que se le realizó nos revela que la cepa al parecer no es móvil o tal vez presenta muy poca movilidad, ya que las diferentes especies de *Thiobacillus* presentan diferentes movilidades.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES:

En este caso no fue determinado el tipo exacto de la bacteria de la cual se trata, por lo que se deben de realizar otros estudios para determinar la especie.

Sin embargo podemos decir que la bacteria aislada es seguramente del género *Thiobacillus* (s/p) ya que presenta tinción Gram Negativa, se alimenta de azufre y crece a una temperatura de 30°C y pH de 3 a 5.

La bacteria aislada se adhiere a la superficie del acero, incluso es visible al ojo humano. Es probable que ésta adhesión provoque corrosión en el acero.

La naturaleza de la bacteria que se alimenta de azufre, dicta las características del medio ambiente en que se va a desarrollar dicha bacteria, por lo tanto, siempre buscará lugares donde el azufre se encuentre disponible.

Cuando una colonia de bacterias se sitúa en un acero que inicialmente tiene una picadura, inmediatamente se alimentan del azufre que el acero contiene, provocando el crecimiento de dicha colonia hasta formar una biocapa sobre la superficie del acero y esto a su vez provoca corrosión en el acero por aeración diferencial.

Tomando en cuenta que es posible que una colonia de *thiobacillus* se sitúe en una picadura de un acero, y al crecer forme una biocapa y que aunado a esto, se agreguen a la biocapa bacterias sulfatoreductoras, provocará que el acero se corroa más rápidamente, debido en parte a la acidez del medio provocado por el proceso metabólico de las bacterias que forman parte de la biocapa.

De acuerdo con lo anterior se puede establecer que estas bacterias se ven beneficiadas en la zona de estudio por el alto contenido de contaminantes base azufre presentes en la zona,

siendo los principales aporte de la compañía Teckchem y la Refinería de PEMEX del lugar, la presencia de los microorganismos dañan las estructuras metálicas que rodean al Río y en caso de inundación se pueden transportar a otros puntos dañando incluso construcciones.

Finalmente se sugiere para minimizar estos efectos, establecer controles estrictos en la emisión de azufre por parte de las dos fuentes principales de contaminación, así como un saneamiento controlado de las márgenes del río.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA:

- Brewis Tony. Extracción de metales por oxidación bacteriana. Mining en español. 35-41 (1996).
- Enciclopedia Encarta 2003.
- Genescá, Joan. Más allá de la herrumbre II. Serie La ciencia para todos. Ed. Fondo de Cultura Económica. México. 37 (1989).
- HARRISON, D. P. y Kelly, A. P. (1982), Aerobic chemolithotrophic bacteria and associated organisms, section 20, 1842-1858.
- Little, Brenda. Wagner, Patricia. Artículo. Microbiologically influenced corrosion. Copyright by NACE. E.U. 1-12 (1997).
- Moreno, Jose Luis. Tesis. Detección de problemas de corrosión microbiológica en instalaciones de pemex, exploración y producción. SEP. DGIT. SEIT. Instituto Tecnológico de Tuxtepec México. 1-28 (1999).
- Videla, Héctor. Manual of biocorrosion. Ed. Lewis Publishers. E.U. cap. 1, 1-8. cap. 2, 13-44. cap. 4, 73-86, 93-98. cap. 7, 179-182 (1997).
- White, D. C. Artículo. Microbially influenced corrosion of carbon steels. Institute for Applied Microbiology. University of Tennessee. E.U. 1-27 (1990).

- Whonchee, Lee. Artículo. Corrosion of mild steel under an anaerobic biofilm. University Microfilm International (UMI) Dissertation Services. <http://www.umi.com>. 1-27 (1990).
- López Juárez, Alfonso. Tesis de Maetría. Efecto del ion Ag(+) sobre la biolixiviación de Calcopirita con microorganismos mesófilos y termófilos moderados. Facultad de Química UNAM. México. 22 (2001).