



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

“BIOCORROSIÓN EN DUCTOS DE ACERO AL
CARBONO SAE-1018 PARA LA EXTRACCIÓN
SECUNDARIA DEL PETRÓLEO”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN BIOTECNOLOGÍA
P R E S E N T A :
CELESTINO ODÍN RODRÍGUEZ NAVA

COMITÉ TUTORIAL

DIRECTORA: DRA. MÓNICA ALICIA MERAZ RODRÍGUEZ

ASESORES: DRA. FLORINA RAMÍREZ VIVES

DR. IGNACIO GONZÁLEZ MARTÍNEZ

MÉXICO D.F.

DICIEMBRE 2007

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Tratamiento de Aguas residuales y Microbiología Ambientales W-106, del Grupo de Ciencia y Tecnología Ambiental y en el Laboratorio de Electroquímica R-109, ambos laboratorios de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

Este trabajo fue financiado a través de la beca número 172713 otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

La Maestría en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluida en el Padrón Nacional de Posgrado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y además cuenta con apoyo del mismo Consejo, con el No. de Registro 0471-O.

Iztapalapa D.F., a 17 de diciembre de 2007

El Honorable Jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, **aprobó** la tesis

**BIOCORROSIÓN EN DUCTOS DE ACERO AL CARBONO SAE-1018
PARA LA EXTRACCIÓN SECUNDARIA DEL PETRÓLEO**

Que presentó

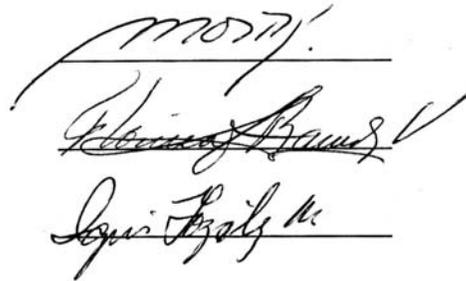
Celestino Odín Rodríguez Nava

Comité Tutorial

Dra. Mónica Alicia Meraz Rodríguez
Directora, UAM-Iztapalapa

Dra. Florina Ramírez Vives
Asesora, UAM-Iztapalapa

Dr. Ignacio González Martínez
Asesor, UAM-Iztapalapa



Honorable Jurado

Dra. Florina Ramírez Vives
Presidente, UAM-Iztapalapa

Dr. Ignacio González Martínez
Secretario, UAM-Iztapalapa

Dr. Eliceo Sosa Hernández
Vocal, Programa de Ductos IMP

Dr. Román Sierra Cabrera
Vocal, ESQIE IPN



AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es un producto de esfuerzo y colaboración entre todos los que participamos en él. Por ello quiero agradecer a:

Dra. Mónica Meraz Rodríguez por brindarme la posibilidad de realizar este trabajo, por tu apoyo y conocimientos en mi formación biotecnológica.

Dra. Florina Ramírez Vives por sus sabios consejos en la parte microbiológica que fueron parte importante de este trabajo.

Dr. Román Sierra Cabrera por su gran apoyo desinteresado y enseñanzas en electroquímica a lo largo de este trabajo.

Dr. Eliceo Sosa Cabrera por haber iniciado esta idea que culminó en este trabajo.

Dr. Ignacio González Martínez, un especial agradecimiento por abrir esta ventana del conocimiento de la electroquímica, también quiero agradecer tu paciencia, regaños y enseñanzas que me brindaste para ser un mejor profesionalista.

A todos por brindarme su amistad

A la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, mi segunda *alma mater*, por su apoyo institucional de formación humana.

A mis padres

Eva Nava, quiero agradecerte tu apoyo incondicional en las locuras de tu hijo, que te quiere mucho

Mayén, parte de este trabajo se logró por tu apoyo, espero que en algún lugar de este mundo, recibas este saludo y eterno agradecimiento.

A todos **mis hermanos** Fernando, Atila, Arturo, Adriana y Mirza, eternos compañeros y amigos que me han motivado y enseñado a ser mejor persona

A ti **Rosalba**, por tu amor, cariño y gran apoyo que me brindas a cada momento.

CONTENIDO DEL TEXTO	Pág.
0. RESUMEN	1
0. ABSTRACT	3
1. INTRODUCCIÓN	5
2. MARCO TEÓRICO	8
2.1. Bacterias Sulfato Reductoras	11
2.1.1. Ciclo del Azufre	13
2.1.2. Fisiología de las Bacterias Sulfato Reductoras	14
2.1.2.1. Mecanismo de respiración de las Bacterias Sulfato Reductoras	14
2.1.2.2. Sustratos utilizados por las Bacterias Sulfato Reductoras	16
2.2. Generalidades de las Biopelículas	17
2.2.1. Mecanismo de formación de las Biopelículas	18
2.2.1.1. Transporte	19
2.2.1.2. Unión inicial	19
2.2.1.3. Adhesión	20
2.2.1.4. Proliferación	21
2.2.1.5. Formación de la biopelícula	22
2.2.2. Estructura de la biopelícula	24
2.2.2.1. Sustancias poliméricas extracelulares	24
2.2.2.2. Conformación de la biopelícula	24
2.3. Corrosión	26
2.3.1. Mecanismo de corrosión	26
2.3.2. Evaluación de la velocidad de corrosión por técnicas electroquímicas.	27
2.3.2.1. Polarización lineal	27
2.3.2.2. Espectroscopía de impedancia electroquímica	32
2.3.2.2.1. Diagrama de Nyquist	33

CONTENIDO DEL TEXTO	Pág.
2.3.2.2.2. Diagrama de Bode	35
3. ANTECEDENTES	39
4. JUSTIFICACIÓN	46
5. HIPÓTESIS	48
6. OBJETIVOS	50
6.1. Objetivo general	51
6.2. Objetivos particulares	51
6.3. Metas	51
7. MATERIALES Y MÉTODOS	52
7.1. Medios específicos para Bacterias Acidogénicas y Sulfato Reductoras	53
7.1.1. Medio para Bacterias Sulfato Reductoras	53
7.1.2. Medio para Bacterias Acidogénicas	53
7.2. Muestreo <i>in situ</i> de bacterias	53
7.2.1. Bacterias Sulfato Reductoras	53
7.2.2. Bacterias Acidogénicas	54
7.3. Pruebas de actividad en los cultivos de Bacterias Sulfato Reductoras y Acidogénicas	54
7.3.1. Actividad de las Bacterias Sulfato Reductoras	54
7.3.2. Actividad acidogénica	54
7.4. Ensayos de sulfato reducción en agua marina, utilizando diferentes condiciones ambientales	55
7.5. Validación de métodos analíticos	55
7.5.1. Determinación de la salinidad y contenido orgánico	55

CONTENIDO DEL TEXTO	Pág.
7.5.2. Determinación de la concentración del ión bicarbonato en agua de mar	56
7.5.3. Medición de glucosa	57
7.5.4. Medición de ácidos grasos volátiles por cromatografía de gases	58
7.5.5. Medición de iones sulfato, cloruros y fosfatos mediante electroforesis capilar	59
7.5.6. Medición de sulfuros	60
7.6. Pruebas electroquímicas	61
7.6.1. Celda electroquímica	61
7.6.2. Electrodo de trabajo	61
7.6.3. Electrodo de referencia	62
7.6.4. Contraelectrodo	63
7.6.5. Polarización lineal	63
7.6.6. Espectroscopía de impedancia electroquímica	63
7.6.7. Solución de trabajo	64
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	65
8.1. Caracterización del agua de mar	66
8.2. Pruebas microbiológicas	67
8.2.1. Muestreo <i>in situ</i> de bacterias acidogénicas y Sulfato Reductoras	67
8.2.2. Actividad de Bacterias Sulfato Reductoras en agua de mar bajo diferentes condiciones ambientales	71
8.3. Técnicas electroquímicas	75
8.3.1. Voltamperometría cíclica	76
8.3.2. Evaluación de la velocidad de corrosión por la técnica de voltametría lineal	77
8.3.3. Estudio de la superficie de acero al carbono mediante espectroscopía de impedancia electroquímica	80

CONTENIDO DEL TEXTO	Pág.
8.3.3.1. Potencial a circuito abierto del acero al carbono SAE-1018 en agua de mar en condiciones anaerobias	80
8.3.3.2. Caracterización del acero al carbono SAE-1018 en agua de mar bajo condiciones anaerobias, mediante espectroscopía de impedancia electroquímica	81
8.3.3.3. Potencial a circuito abierto del acero al carbono en agua de mar bajo condiciones anaerobias, con una concentración de HS^- de 1×10^{-4} M	92
8.3.3.4. Caracterización del acero al carbono SAE-1018 en agua de mar bajo condiciones anaerobias con presencia de bisulfuro (1×10^{-4} M), mediante espectroscopía de impedancia electroquímica	93
8.4. Mecanismo de biocorrosión del acero al carbono SAE-1018, en presencia de agua de mar bajo condiciones anaerobias	100
9. CONCLUSIONES	104
10. BIBLIOGRAFÍA	107
11. ANEXOS	112

CONTENIDO DE TABLAS	Pág.
Tabla 2.1. Reacciones electroquímicas en el mecanismo de la corrosión inducida microbiológicamente	9
Tabla 2.2. Diferencia entre subgrupos del 1 al 4 de la reducción desasimilatoria del sulfato o Azufre	13
Tabla 2.3. Energía libre disponible por la oxidación de diversos compuestos orgánicos, utilizando sulfato como aceptor final de electrones	16
Tabla 7.1. Condiciones para pruebas de actividad sulfato reductora	55,71
Tabla 7.2. Composición química del acero al carbono SAE-1018	62
Tabla 7.3. Composición del agua de mar sintética	64
Tabla 8.1. Caracterización del agua marina	66
Tabla 8.2. Actividad acidogénica en medio de Ravot modificado	68
Tabla 8.3. Actividad sulfato reductora en medio de Ravot	69

CONTENIDO DE FIGURAS	Pág.
Figura 2.1. Esquema de las reacciones donde se lleva a cabo la despolarización catódica	10
Figura 2.2. Subgrupos y géneros de Eubacterias Gram-negativas con pared celular del grupo 7	12
Figura 2.3. Ciclo biogeoquímico del azufre	14
Figura 2.4. Mecanismo de sulfato reducción	15
Figura 2.5. Biopelícula de <i>P. Aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> y <i>Flavobacterium spp.</i> desarrolladas en tubería de agua potable	25
Figura 2.6. Diagrama de Evans para la estimación de la corrosión que involucra un único metal	28
Figura 2.7. Representación de las señales de perturbación y respuesta en función del tiempo, en un estudio de impedancia	33
Figura 2.8. Representación de la impedancia como un número complejo	34
Figura 2.9. Diagrama de Nyquist, gráfica de las magnitudes de impedancia imaginaria (Z') e impedancia real (Z) a diferentes frecuencias	34
Figura 2.10. Diagrama de Bode (magnitud del módulo $ Z $ vs log frecuencia)	36
Figura 2.11. Diagrama de Bode (Ángulo de fase θ vs log frecuencia)	37
Figura 2.12. Circuito que representa los datos del diagrama de Nyquist	38
Figura 7.1. Curva estándar de glucosa	58
Figura 7.2. Curvas estándar de ácidos grasos volátiles	59
Figura 7.3. Curva estándar de ión sulfato	60
Figura 7.4. Curva estándar de sulfuros	61
Figura 7.5. Esquema del electrodo de trabajo	62

CONTENIDO DE FIGURAS	Pág.
Figura 8.1. Microscopía electrónica de Bacterias Acidogénicas obtenidas en el medio de Ravot modificado	68
Figura 8.2. Bacterias Sulfato Reductoras obtenidas en el medio de Ravot	70
Figura 8.3. Producción de sulfuro a través del tiempo en agua marina bajo las condiciones siguientes: i) Lactato, ii) Lactato + Nutrientes, i') Lactato + Metal y ii') Lactato + Nutrientes + Metal	72
Figura 8.4. Bacterias Sulfato Reductoras en cupones de acero al carbono, en agua de mar durante un periodo de 7 meses	74
Figura 8.5. Típicos voltamperogramas cíclicos obtenidos para el acero al carbono SAE-1018 en agua de mar en ausencia de oxígeno. A) Polarización cíclica catódica (dirección negativa), B) Polarización cíclica anódica (dirección positiva). El área del electrodo fue de 0.196 cm^2	77
Figura 8.6. Voltimetría lineal de acero al carbono en agua marina en ausencia de oxígeno	78
Figura 8.7. Cálculo de la R_p del acero al carbono SAE-1018 en agua marina en ausencia de oxígeno	78
Figura 8.8. Voltametrías lineales de acero al carbono en agua de mar a diferentes revoluciones por minuto	79
Figura 8.9. Variación del potencial a circuito abierto del acero al carbón SAE-1018 en agua de mar bajo condiciones anaerobias durante un periodo de 10 días	81
Figura 8.10. Diagramas de Nyquist del acero al carbono SAE-1018 en agua de mar en ausencia de oxígeno, obtenidos en el primer día de inmersión. I) Tiempo inicial, II) 0.12 días, III) 0.265 días, IV) 0.43 días y V) 0.93 días	82

CONTENIDO DE FIGURAS	Pág.
Figura 8.11. Diagramas de Nyquist obtenidos para la superficie de acero al carbono del día 1 al 10 de tiempo de inmersión en agua mar bajo condiciones anaerobias: (A) del tiempo inicial al día 9.93. (B) Acercamiento de los valores de alta frecuencia para el día 3.03. (C) Acercamiento de los valores de alta frecuencia para el día 9.93	84
Figura 8.12. Fotografías de microscopía electrónica del acero al carbono en agua de mar bajo condiciones anaerobias a diferentes tiempos de inmersión. A) 0.12 días, B) 0.43 días, C) 0.67 días, D) 0.9 días, E) 2.9 días y F) 9.93 días	85
Figura 8.13. Composición semicuantitativa atómica de los productos de corrosión formados sobre la superficie de acero al carbono SAE-1018 en agua de mar bajo condiciones anaerobias	86
Figura 8.14. Diagramas de Bode para el acero al carbono SAE-1018 en agua de mar bajo condiciones anaerobias durante un tiempo de inmersión de 10 días. A) Diagrama del ángulo de fase y B) Diagrama de impedancia	88
Figura 8.15. Circuito equivalente propuesto para estudiar los fenómenos en la interfase de acero al carbono SAE-1018 en agua de mar	89
Figura 8.16. Valores de capacitancia (μF) y Resistencia (Ω) de la interfase acero al carbono/agua de mar en ausencia de oxígeno. A) Capacitancia de los productos de corrosión, B) Resistencia de los productos de corrosión, C) Capacitancia del cargado de la doble capa, D) Resistencia de la transferencia de carga	90
Figura 8.17. Tiempo de relajación constante a través del tiempo de inmersión en la interfase acero al carbón/agua de mar	91
Figura 8.18. Potencial a circuito abierto del acero al carbono SAE-1018 en agua de mar con una concentración del ión bisulfuro de $1 \times 10^{-4} \text{ M}$	92

CONTENIDO DE FIGURAS	Pág.
Figura 8.19. Diagrama de Nyquist de impedancia para la caracterización del acero al carbono en agua de mar con una concentración de sulfuro de $1 \times 10^{-4} \text{M}$, bajo condiciones anaerobias	94
Figura 8.20. Diagramas de Bode durante un tiempo de inmersión de 8 días obtenidos para el acero al carbono en agua de mar en ausencia de oxígeno con una concentración de $1 \times 10^{-4} \text{M}$ de HS^-	95
Figura 8.21. Valores de capacitancia (μF) y Resistencia (Ω) de la interfase acero al carbono/agua de mar, en ausencia de oxígeno. A) Capacitancia de los productos de corrosión, B) Resistencia de los productos de corrosión, C) Capacitancia de la difusión del ión bisulfuro, D) Resistencia de la difusión del ión bisulfuro, E) y F) Impedancia de la difusión del H^+	97
Figura 8.22. Tiempo de relajación a medianas frecuencias a través del tiempo de inmersión del electrodo acero al carbono en agua de mar con una concentración de $1 \times 10^{-4} \text{M}$ del ión bisulfuro	99
Figura 8.23. Tiempo de relajación a bajas frecuencias a través del tiempo de inmersión del electrodo acero al carbono en agua de mar con una concentración de $1 \times 10^{-4} \text{M}$ del ión bisulfuro, para el estudio de la difusión del ión H^+	100
Figura 8.24. Especies químicas presentes en la interfase de acero al carbono/agua de mar	101



Resumen

Casa abierta al tiempo

0. RESUMEN

Se estudió el mecanismo de corrosión inducido microbiológicamente (MIC) por Bacterias Sulfato Reductoras (BSR), en ductos de acero al carbono SAE-1018 que transportan agua de mar bajo condiciones anaerobias, la inyección de agua de mar es comúnmente utilizada para la extracción secundaria del petróleo en plataformas petroleras. El estudio se realizó mediante pruebas de actividad sulfato reductora y técnicas electroquímicas como la espectroscopía de impedancia electroquímica, para entender el mecanismo de corrosión de la interfase de acero al carbono / agua de mar.

En este estudio se encontró que la actividad sulfato reductora depende de la evolución del H_2 en los sitios catódicos del metal y a la contribución de otros metales que se disuelven en el proceso de corrosión, que actúan como micronutrientes, es decir hay un efecto sinérgico sobre la actividad sulfato reductora, y por lo tanto sobre la corrosión; no obstante, esta actividad sulfato reductora es muy lenta, debido a que la reacción anódica depende solamente de la reducción del protón hidrógeno (H^+) y/o agua, además de la difusión de éstos compuestos entre las capas de productos de corrosión y depósitos que se forman sobre la superficie del metal.

Por último, se sugiere que los depósitos y productos de corrosión pueden ser: aragonita, hidróxido de magnesio, óxidos de hierro, hidroxisulfatos de hierro (II) y (III). Los cuáles tienen características pasivas; además la capa que se forma es porosa y adherente, debido a la alta resistencia a la difusión del H^+ , como mostraron los estudios de espectroscopía de impedancia electroquímica.



0. ABSTRACT

The microbiological Induced Corrosion (MIC) mechanism by Sulphate Reducing Bacteria (SRB) inside carbon steel SAE-1018 (substratum) pipelines which transport seawater in anaerobic conditions was studied. The injection of seawater is frequently used in secondary oil extraction over oil platforms.

This work, in order to understand the corrosion mechanism in the interface between carbon steel and seawater, was developed through SRB activity test and electrochemical techniques (principally electrochemical impedance spectroscopy) both.

We found out that the sulphate reducing activity (SRA) depends on the H_2 evolution on substratum cathodic zone, and on the microelements contribution dissolved by corrosion processes. In other word, there is a synergic effect over the sulphate reducing activity; in consequence the corrosion is increased. The SRA is very slow because the anodic reaction depends on the reduction of the H^+ and on the diffusion of the H^+/H_2O among corrosion products layers formed on the substratum.

Finally, through electrochemical impedance spectroscopy technic, this work demonstrated that there is a high resistance of the H^+/H_2O diffusion, these results suggest that the corrosion products and incrustations formed in the carbon steel pipelines are $CaCO_3$, $Mg(OH)_2$, some different oxides iron species; these products have passive, adhesive and porous characteristics.



Introducción
Casa abierta al tiempo

1. INTRODUCCIÓN

Un método comúnmente utilizado en la explotación del petróleo es la extracción secundaria, la cual consiste en inyectar agua, con el objeto de aumentar la presión del pozo durante el proceso producción de petróleo. Con lo que respecta a la extracción en plataformas petroleras ubicadas en el golfo de México, el agua utilizada para la inyección a pozo, es simplemente agua mar.

En los ductos que transportan el agua marina para la inyección secundaria en pozo, se presentan problemas de incrustación y corrosión. Romero y col. (2002) reportan que la corrosión que se genera es principalmente por vía microbiológica.

La corrosión es un fenómeno que afecta a las superficies metálicas, en donde existe pérdida de hierro, y está dada principalmente por reacciones de óxido reducción. La magnitud de la corrosión se debe principalmente a la naturaleza del metal y a las características del ambiente, por ejemplo la presencia de enlaces químicos que sean susceptibles de reducirse, tales como el O_2 o el H^+ . La corrosión debida a la presencia de los microorganismos, es una de la principales causas del deterioro del metal, y se conoce como corrosión inducida microbiológicamente (MIC por sus siglas en inglés Microbiological Induced Corrosion) o biocorrosión. La MIC es el deterioro acelerado de metales, debido generalmente a la presencia de metabolitos como el ión bisulfuro (HS^-) y el protón hidrógeno (H^+), generado por bacterias sulfato reductoras (BSR) y acidogénicas (AC) respectivamente (Axelsen y Rogne, 1998). Estas bacterias generan microambientes mediante la formación de biopelículas, las cuales son estructuras heterogéneas de polisacáridos y proteínas sintetizadas por las bacterias; estas biopelículas se encuentran adheridas a la superficie metálica y juegan un papel importante en la generación apropiada del ambiente anaerobio en el cual se desarrollan las BSR.

Otro fenómeno común de corrosión en ductos de acero al carbono, utilizado en agua de mar, es el de picadura de la superficie metálica, Uhlig (1985) la define como la reacción anódica sobre una pequeña área de la superficie metálica, provocando una picadura profunda en el metal; este fenómeno, se observa comúnmente cuando existe la presencia del ión cloruro (Cl^-), como se demuestra en el estudio realizado por Romero y col. (2002).

Barchiche y col. (2004) muestran que el proceso de corrosión de agua marina sobre acero al carbono empieza con una serie de reacciones que involucran la formación de incrustaciones, como carbonatos de calcio, hidróxido de magnesio entre otras, además de óxidos de hierro.

Todos estos mecanismos de corrosión en una superficie metálica, dan a suponer que el mecanismo de corrosión es un proceso complicado en sistemas de inyección de agua de mar para la extracción secundaria del petróleo. En este trabajo, se realizó el estudio de corrosión del acero al carbono SAE-1018 (utilizado en la industria del petróleo) en agua de mar, mediante pruebas biológicas y las técnicas electroquímicas de polarización lineal y espectroscopía de impedancia electroquímica; con el objeto de determinar los mecanismos de corrosión que intervienen en la interfase del acero al carbono y el agua de mar bajo condiciones anaerobias y la influencia de la actividad de las bacterias AC y BSR durante este proceso.



Marco Teórico
Casa abierta al tiempo

2. MARCO TEÓRICO

Como se mencionó en la introducción, la MIC es un proceso común en el proceso de corrosión y se describió desde 1934 por Kühn y Vlugt; desde entonces, se sabe que la participación de las BSR es fundamental en los procesos de biocorrosión. Estos dos autores propusieron la teoría de despolarización catódica (Descat) y fueron retomadas en 1995 por Little y col. La teoría de Descat, es el principal mecanismo para el fenómeno de corrosión por BSR. Esta teoría se resume en seis reacciones básicas (Tabla 2.1).

Tabla 2.1 Reacciones electroquímicas en el mecanismo de la MIC
TEORÍA DE LA DESPOLARIZACIÓN CATÓDICA

I	$8\text{H}_2\text{O} \longrightarrow 8\text{OH}^- + 8\text{H}^+$
II	$4\text{Fe} \longrightarrow 4\text{Fe}^{2+} + 8\text{e}^-$ (Ánodo)
III	$8\text{H}^+ + 8\text{e}^- \longrightarrow 4\text{H}_2 \text{ ads}$ (Cátodo)
IV	$\text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}_2 \text{ ads} \xrightarrow{\text{BSR}} \text{S}^{2-} + 4\text{H}_2\text{O}$ (Despolarización catódica)
V	$\text{Fe}^{2+} + \text{S}^{2-} \longrightarrow \text{FeS}$ (Ánodo)
VI	$3\text{Fe}^{2+} + 6\text{OH}^- \longrightarrow 3\text{Fe}(\text{OH})_2$ (Ánodo)
$4\text{Fe}^{2+} + \text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{FeS} + 3\text{Fe}(\text{OH})_2 + 2\text{OH}^-$	

En la tabla 2.1, se describe el mecanismo de la MIC en 6 reacciones y en la Fig 2.1 se ejemplifica; en el primer paso los protones son producidos por la disociación del agua o bien por bacterias acidogénicas mediante la oxidación de compuestos de mayor peso molecular a ácidos grasos volátiles (AGV), alcoholes, entre otros que provocan una disminución del valor de pH, aumentando la concentración de H^+ (Fig 2.1 reacción I), que es el principal inductor de la oxidación del hierro (Axelsen y Ronge, 1998; Videla y Characklis, 1992). Los electrones perdidos del hierro (Fig. 2.1 reacción II) son ganados por el H^+ para formar H^0 o H_2 , los cuales se encuentran adsorbidos en la superficie metálica, (Fig. 2.1 reacción III), estas especies se absorben en la superficie del metal. El H^0 o H_2 , producidos en la reacción catódica,

en presencia de BSR, es utilizado como fuente de energía promoviendo la Descat (Fig. 2.1 reacción IV); lo que da como consecuencia mayor disolución del metal proveniente del ánodo; esta reacción es posible, debido a que muchas especies de *Desulfovibrio*, producen la enzima hidrogenasa. Los productos de la reacción VI son sulfuros y agua, el sulfuro reacciona con hierro para formar FeS, este compuesto puede adherirse a la superficie del metal, o bien se puede perder en la solución lo que provoca un desequilibrio en el par de especies en la reacción Fe^0 / Fe^{2+} , dando continuidad a esta reacción anódica y por lo tanto al proceso de corrosión.

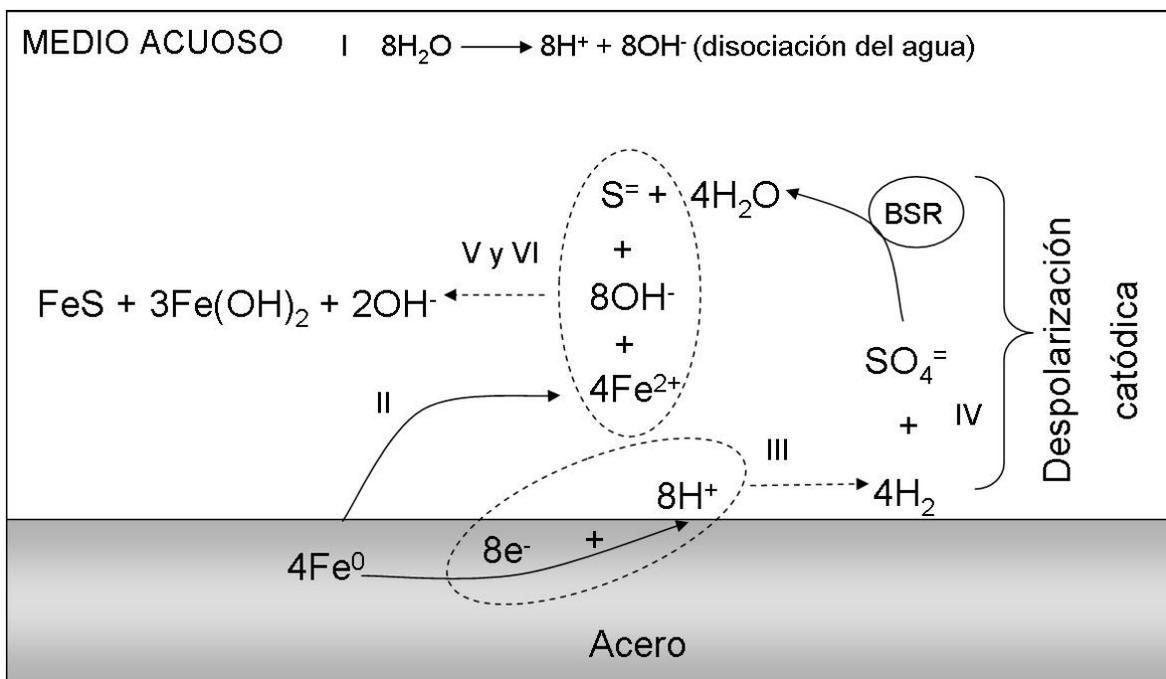


Figura 2.1. Esquema de las reacciones donde se lleva a cabo la despolarización catódica

La explicación de la Fig.2.1, se desarrolla en condiciones anaerobias, donde el principal agente oxidante es el H^+ , dando lugar a la reacción anódica, o bien, a la oxidación del hierro Fe^0 a Fe^{+2} . En resumen, esta reacción anódica se ve favorecida por acción microbiana por dos aspectos: 1) Producción de metabolitos corrosivos como ácidos orgánicos; 2) Producción de metabolitos que actúan con otras especies químicas presentes en el medio, provocando un aumento en la corrosión como es el caso de los sulfuros, que forman productos como FeS que provocan un desequilibrio

en la reacción Fe/Fe^{2+} dando continuidad a la reacción de oxidación del hierro (Videla y Characklis, 1992).

Antes de pasar a la teoría del mecanismo de corrosión y principios de técnicas electroquímicas, se presentan algunas generalidades de las BSR, que como ya se propuso anteriormente, son las bacterias más comunes en el proceso de biocorrosión.

2.1. Bacterias sulfato reductoras

Las BSR, como su nombre lo dice, son bacterias que pueden utilizar el ión SO_4^- como aceptor final de electrones en cadena respiratoria, teniendo como producto final el ión S^- , el cuál en presencia de Fe^{2+} es precipitado como FeS . Las BSR son procariotas con una pared celular compleja, la cual consiste en una pared celular externa y una interna, con una capa delgada de peptidoglicano y algunos otros componentes en esta estructura celular; estas bacterias son usualmente Gram-negativas (Holt y col. 1994), excepto las especies como *Desulfotomaculum* como lo menciona Hao y col. (1996). Las células pueden tener formas esféricas, ovaladas, de bastones, helicoidales o filamentosas, y algunas pueden estar encapsuladas. Su reproducción es por fisión binaria, pero algunos grupos se reproducen por gemación; además de tener en algunos casos movilidad. Los miembros de esta división pueden ser litoautótrofos u organoheterótrofos; litoautótrofos ya que pueden utilizar el H_2 como fuente de energía y el CO_2 como fuente de carbono, heterótrofos porque pueden utilizar un compuesto orgánico como fuente de energía y carbono, por ejemplo el lactato. Este grupo de bacterias se consideran anaerobias estrictas; no obstante, puede crecer en condiciones anaerobias facultativas de microaerofilia (Holt y col. 1994), incluso hasta en condiciones aerobias, como demuestra Dilling y Cypionka (1990), quienes obtuvieron el cultivo de *Desulfovibrio desulfuricans* cepa CSN, la cual podía utilizar O_2 como aceptor final de electrones; evidenciando que las BSR pueden utilizar el oxígeno como aceptor final de electrones.

Holt y col. (1994) mencionan la clasificación de gran parte de los microorganismos. Con lo que respecta a las BSR, pertenecen al grupo 7 de las eubacterias Gram-negativas. Dentro de este grupo hay subgrupos con diferentes géneros de bacterias como se observa en la Fig. 2.2.

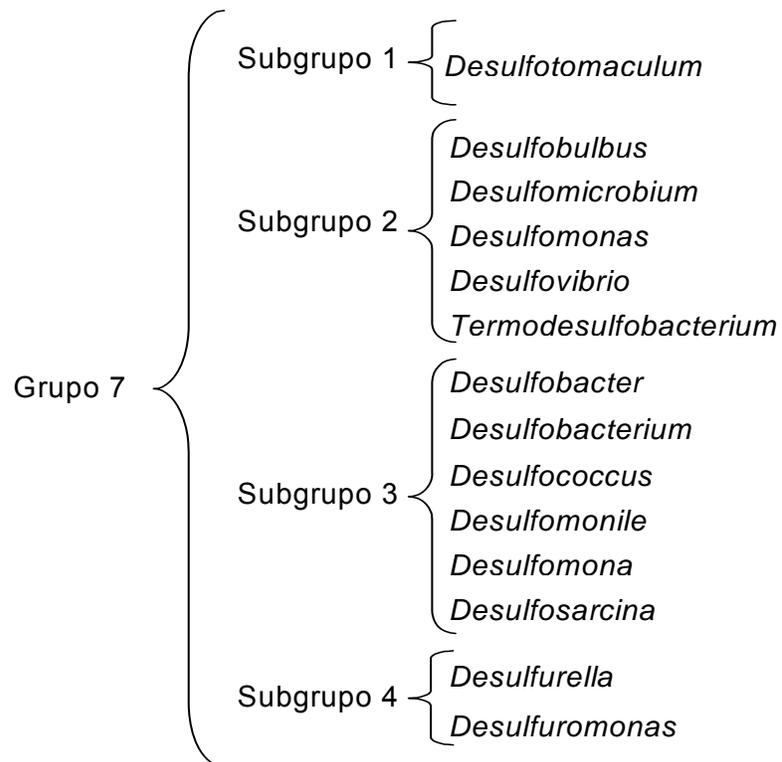


Figura 2.2. Subgrupos y géneros de Eubacterias Gram-negativas con pared celular del grupo 7

En la tabla 2.2 se detallan generalidades de 4 subgrupos propuestos para las BSR.

Tabla 2.2. Diferencia entre subgrupos del 1 al 4 de la reducción desasimilatoria del sulfato o Azufre (Holt y col. 1994).

Características	1. BSR que forman esporas	2. BSR que no forman esporas y oxidan incompletamente los substratos orgánicos	3. BSR que no forman esporas y oxidan completamente los substratos orgánicos	4. Bacterias reductoras del azufre
Reducción de SO_4^{2-} a H_2S	+	+	+	-
Reducción de S^0 a H_2S	-	+ / -	-	+
Substratos orgánicos *	+	+	+	+
Mineralización de compuestos orgánicos	+ / -	-	+	+

* Acetato, propionato, butirato y lactato

2.1.1. Ciclo del Azufre

Todas las plantas y animales requieren azufre para la síntesis de proteínas. La transformación biológica del azufre en ambientes naturales, es un proceso cíclico, que comprende componentes aerobios y anaerobios (Figura 2.3). En su más alto estado de oxidación, el azufre existe como sulfato (SO_4^{2-}) el cual es reducido a sulfuro (S^{2-}) por la mayoría de las BSR, tales como el género *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*, *Desulfobacter* y otras que se mencionan en la Fig. 2.2 (sulfato reducción desasimilatoria). El sulfuro puede ser parcialmente oxidado por bacterias del género *sulfooxidantes* a S^0 y totalmente a sulfato, esto dependerá de la concentración de oxígeno, también el azufre (como SO_4^{2-}) es requerido en microorganismos para su incorporación dentro de los aminoácidos (sulfato reducción asimilatoria).

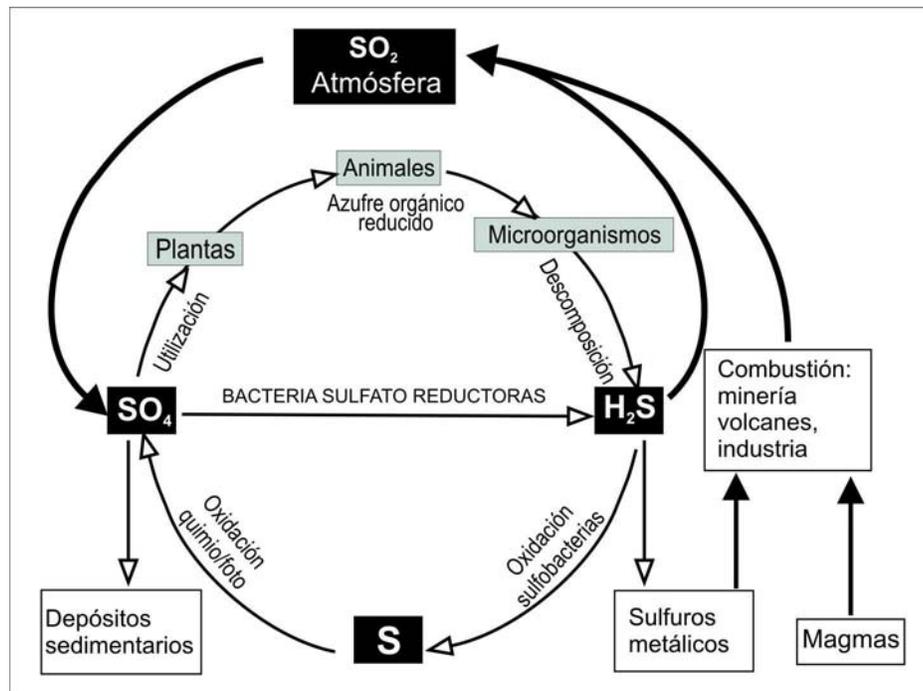
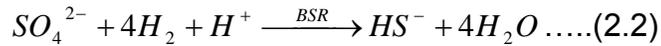
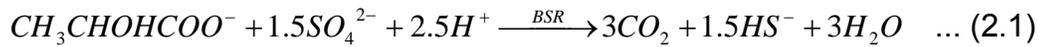


Figura 2.3. Ciclo biogeoquímico del azufre

2.1.2. Fisiología de las Bacterias Sulfato Reductoras

2.1.2.1. Mecanismo de respiración de las Bacterias Sulfato Reductoras

Bajo condiciones anaerobias, el sulfato es utilizado como aceptor de electrones y es reducido completamente hasta sulfuro, este compuesto se pierde en la atmósfera en forma de H_2S (agente corrosivo) o también puede depositarse como piritita sedimentaria (FeS_2) en presencia de iones Fe^{2+} y Fe^{3+} (Videla y Characklis, 1992). En la ecuación 2.1 se muestra la mineralización del lactato ($\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^-$) por bacterias sulfato reductoras organoheterótrofas, produciendo el ión HS^- ; en la ecuación 2.2, se muestra la utilización de H_2 como fuente de energía para las BSR litoautótrofas, que es un producto de la reducción del H^+ en el proceso de corrosión del acero al carbono, el ión HS^- producto de la respiración de las BSR es el ión principal del secuestro del ión Fe^{2+} (producido en la reacción anódica del proceso de corrosión del acero al carbono).



El paso inicial en la reducción bioquímica del sulfato, es el transporte del sulfato exógeno a través de la membrana bacteriana al interior de la célula. Una vez que el sulfato está en el interior, procede la sulfato reducción por la acción de la enzima ATP sulforilasa, la cual combina el sulfato con el ATP para producir una molécula altamente activada conocida como adenosin fosfosulfato (APS) y pirofosfato. La molécula de APS es rápidamente convertida a sulfito (SO_3^-) por la enzima citoplasmática APS reductasa. Posteriormente se ha encontrado la acción de una enzima sulfito reductasa, las más comunes son las presentes en el género de *Desulfovibrio*, conocidas como desulfovirdina y desulforubidina. El sulfito puede ser reducido mediante varios intermediarios para formar el ión sulfuro, los cuales son: metabisulfito ($S_2O_5^{2-}$), ditionita ($S_2O_4^{2-}$), tritionato y por último el tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$); el tiosulfato formado puede ser reducido hasta H_2S como se muestra en la Figura 2.4 (Gibson, 1990).

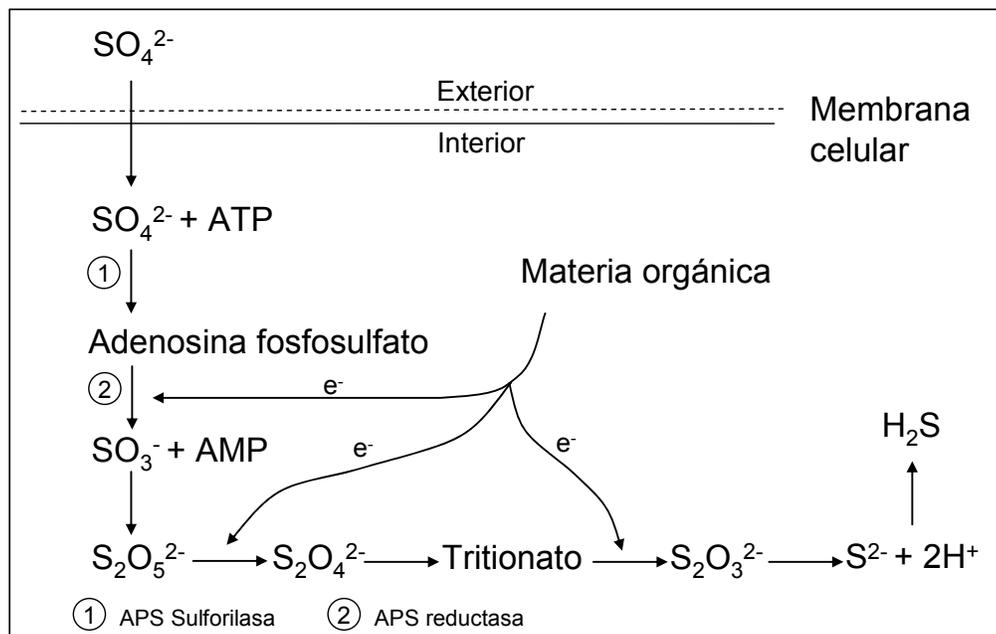


Figura 2.4. Mecanismo de sulfato reducción

2.1.2.2. Sustratos utilizados por las Bacterias Sulfato Reductoras

Se ha encontrado que las BSR son capaces de utilizar como fuente de carbono y energía una variedad de compuestos orgánicos; por ejemplo, los ácidos grasos de bajo peso molecular, alcoholes y lactato. En la siguiente tabla (Tabla 2.3) se observa la energía disponible, debido a la mineralización compuestos orgánicos, utilizando sulfato como aceptor final de electrones.

Tabla 2.3. Energía libre disponible por la oxidación de diversos compuestos orgánicos, utilizando sulfato como aceptor final de electrones

Ecuación	Reacción	Energía libre (KJ/mol)
1	$3\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3^- \longrightarrow 2\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2^- + \text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$	-165.0
2	$2\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3^- + \text{SO}_4^{2-} \longrightarrow 2\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2^- + 2\text{HCO}_3^- + \text{HS}^- + \text{H}^+$	-189.0
3	$\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2^- + 0.75\text{SO}_4^{2-} \longrightarrow \text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2^- + \text{HCO}_3^- + 0.75\text{HS}^- + 0.25\text{H}^+$	-151.0
4	$\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2^- + \text{SO}_4^{2-} \longrightarrow 2\text{HCO}_3^- + \text{HS}^-$	-60.0
5	$4\text{H}_2 + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ \longrightarrow 4\text{H}_2\text{O} + \text{HS}^-$	-152.0

Nota: $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3^-$ (lactato); $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2^-$ (acetato); $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2^-$ (propionato).

Termodinámicamente, la energía liberada de la reacción del lactato, propionato, acetato y el H_2 , utilizando el SO_4^{2-} como aceptor final de electrones, es espontánea; lo que indica que estos compuestos son susceptibles de ser utilizados por las BSR como fuentes de carbono y/o energía, como menciona Holt y col. (1994). No obstante, cinéticamente, los compuestos más rápidamente degradables son los orgánicos como el lactato, acetato y propionato, en comparación de cuando se tiene un medio litoautótrofo con H_2 como fuente de energía y CO_2 como fuente de carbono.

2.2. Generalidades de las Biopelículas

Se ha descrito de manera general la importancia de las BSR en los procesos de corrosión, no obstante existen factores que contribuyen a la corrosión microbiana, tal como la adhesión de los microorganismos a las superficies. Durante el complejo proceso de adhesión, las células bacterianas alteran su fenotipo debido a la cercanía de una superficie y sintetizan una matriz heterogénea de polisacáridos, ésta dependerá de los microorganismos presentes y del ambiente (Costerton y col. 1995).

Existen diversas definiciones de biopelícula; Characklis y Widerer (1989) y Costerton y col. (1995), la definen como: *un conjunto de células microbianas que se asocian reversible o irreversiblemente sobre la superficie, formando matrices heterogéneas constituidas por: microorganismos, partículas orgánicas y sustancias poliméricas extracelulares (EPS, por sus siglas en inglés), la cual sirve para mantener unidas las células bacterianas entre ellas mismas y con la superficie; otra definición es: una biopelícula es un montaje de células de microorganismos asociados superficialmente y que está rodeada o encerrada en una matriz altamente hidratada formada principalmente por EPS, con la finalidad de cooperar metabólicamente para facilitar su nutrición y responder a ataques microbianos* (Chen y Stewart, 2002) (Donlan, 2002) (Costerton y col., 1987). De estas dos definiciones se puede deducir, que la biopelícula tiene diversas funciones, tales como protección y evitar el estrés ambiental.

Las biopelículas tendrán una conformación en el espacio que puede ser regular o irregular, la cual dependerá de factores físicos como el flujo, naturaleza de la superficie, o bien de factores biológicos como la heterogeneidad entre las especies de microorganismos que coexisten en ella.

Las biopelículas se encuentran tanto en la tecnología, como en la naturaleza. En la naturaleza pueden ser encontradas en casi todas las superficies expuestas al agua,

se acumulan en partículas suspendidas y en superficies de piedra de los ríos y lagos, también se pueden encontrar en ambientes marinos en donde forman parte importante en el eslabón de la pirámide trófica. Las biopelículas pueden ser benéficas, dada su estabilidad pueden ser utilizadas tecnológicamente, como sucede en la remoción de contaminantes contenidos en aguas residuales. De igual manera, pueden generar infecciones a humanos y animales debido a la formación de biopelículas en instrumentación clínica; o bien en superficies como en los dientes, las biopelículas también tienen un papel de protección del ambiente exterior, como a los fármacos por ejemplo. En procesos industriales la incrustación y corrosión en tuberías es uno de los principales problemas ocasionados por la formación de biopelículas.

2.2.1. Mecanismo de formación de las Biopelículas

Para que las bacterias logren sobrevivir y reproducirse con éxito, en muchos sistemas, requieren de la colonización de una superficie y/o de la integración a una comunidad que haya formado una biopelícula (Beveridge, 1997).

Es muy común que las bacterias se fijen a casi cualquier superficie sumergida en un ambiente acuático o bien lleno de algún líquido, por lo que en medios naturales, es difícil encontrar biopelículas suspendidas en el medio acuoso. Cuando estos microorganismos se encuentran inmovilizados y formando parte de una biopelícula, se les llama sésiles, y a aquellos microorganismos que se encuentran flotando en el medio acuoso se les llama plantónicos (Elvers y Lappin-Scott, 2000).

La interface sólido-líquido que se forma entre una superficie y el medio acuoso, brinda un ambiente ideal para la unión y crecimiento de los microorganismos (Donlan, 2002).

Las etapas generalmente aceptadas en el desarrollo de las biopelículas según Kang y col. (2003) son cinco:

1. Transporte del microorganismo a la superficie de adhesión.
2. Unión inicial
3. Adhesión
4. Proliferación
5. Formación de la biopelícula

2.2.1.1. Transporte

Dentro de un sistema acuoso, un microorganismo está sujeto a diversas fuerzas como son la fuerza de gravedad y la fuerza de arrastre del fluido, la cual será proporcional a la velocidad con que éste se mueva. En sistemas estáticos donde la velocidad del fluido es prácticamente nula, el transporte de la célula vía flagelos, juega un papel importante para lograr el transporte del microorganismo hasta el sustrato o superficie; mientras que las bacterias que no cuentan con flagelos o que carecen de movimiento propio, es la gravedad la que facilita su transporte y unión con la superficie (Beveridge, 1997). En otros sistemas donde el flujo es altamente turbulento, por ejemplo en sistemas de filtración, es la fuerza convectiva de dragado, la que influye en el transporte de los microorganismos a través de la superficie de interés (Kang y col., 2003).

2.2.1.2. Unión inicial

Una vez que el microorganismo ha sido transportado hasta la superficie de un sustrato, se lleva a cabo la unión inicial, la cual según Beveridge, (1997) puede ser descrita como un evento de dos fases: a) la fase de unión reversible que correspondería a la etapa 2 de Kang y col. (2003) y b) la fase de unión irreversible que corresponde a la etapa 3 de Kang y col. (2003).

La unión reversible se da cuando las células se unen a la superficie mediante una porción de la célula o un flagelo, mientras que estas continúan girando, lo que puede provocar que las células se despeguen y sean transportadas hacia otro sitio en la superficie o hacia otro sustrato (Beveridge, 1997). Costerton y colaboradores (1987) sugieren que muchas bacterias se asocian con superficies en posiciones transitorias particularmente en ambientes oligotróficos marinos.

La unión puede tornarse irreversible sólo después de un periodo de estabilidad, durante el cual las células giraron en torno al eje de unión y frecuentemente ya han emigrado previamente del primer sitio de unión (Beveridge, 1997).

No todas las células que tocan una superficie, se fijan a ella irreversiblemente. Una explicación para este comportamiento de rotación de las bacterias en la naturaleza, es que evalúan químicamente el sitio potencial de unión, rotando y moviéndose de un sitio a otro hasta que los quimiorreceptores de las bacterias detectan las condiciones ambientales ideales (Beveridge, 1997), por ejemplo, la superficie del sustrato, que particularmente en ambientes naturales y médicos, se encuentran cubiertos con diversos polímeros adsorbidos (Costerton y col., 1987) que le confieren diferentes características físicas y químicas a dicho sustrato. Este comportamiento ha sido visto en la naturaleza cuando varias especies de bacterias muestran un movimiento directo acompañado de un posicionamiento preferencial de los microorganismos en una superficie sólida (Beveridge, 1997).

2.2.1.3. Adhesión

La adhesión o unión irreversible, es la etapa principal para que una bacteria lleve a cabo la colonización de superficies inertes y en tejidos vivos. Se ha estimado que la mayoría de las poblaciones bacterianas en la naturaleza, viven y se multiplican unidas a una superficie (Mulvev y Hultgren, 2000).

Los diferentes mecanismos de adhesión bacteriana, según (Matthysse, 1992), son:

- a) Interacciones entre cargas
- b) Interacciones hidrofóbicas
- c) Lectinas
- d) Unión vía fibronectina (glicoproteínas de alto peso molecular con un bajo contenido de carbohidratos y que se unen a la membrana celular)
- e) Unión vía colágeno
- f) Fimbria Bacterial, entre otros.

La velocidad o razón de adhesión bacteriana a una amplia variedad de superficies es respuesta de características físicas tales como la hidrofobicidad (Costerton y col., 1987). Varios investigadores han encontrado que los microorganismos se unen mejor y más rápido a superficies no polares hidrofóbicas como plástico y teflón que en materiales hidrofílicos como el vidrio y metales (Donlan, 2002).

La colonización se incrementa conforme aumenta la rugosidad de la superficie ya que hay una mayor área superficial y las fuerzas de separación se disminuyen (Donlan, 2002).

2.2.1.4. Proliferación

Una célula bacteriana inicia su proceso de adhesión irreversible mediante su vinculación con la superficie a través de sacáridos excretados por las bacterias (exopolisacáridos), luego, su división celular produce células hermanas que se unen en la matriz del exopolisacárido, iniciando así el desarrollo de microcolonias adherentes que dan pie a la proliferación celular (Costerton y col., 1987).

2.2.1.5. Formación de la biopelícula

Las biopelículas pueden formarse sobre cualquier tipo de superficie, como tejidos vivos, en tuberías de sistemas hidráulicos, en la industria o en sistemas acuáticos naturales. El desarrollo de las microcolonias, así como su actividad metabólica genera diferentes compuestos que son segregados al exterior, tales como los exopolisacáridos, formándose una biopelícula continua en la superficie colonizada, la cual es función de la división en microcolonias y del reclutamiento de células plantónicas (Costerton y col., 1987).

Los bloques formadores de biopelícula parecen ser polisacáridos y proteínas excretadas por las bacterias (Chen y Stewart, 2002). Algunas de las fuerzas fisicoquímicas de unión que pueden conectar los hilos de polímeros son: interacciones electrostáticas entre hilos de polímeros cargados contrariamente. Unidos por uniones multivalentes como el calcio, en los casos en los que hay hilos poliméricos cargados de igual forma. Unión física tal como el enredo de dichos hilos. Enlaces covalentes. Interacciones hidrofóbicas y puente de hidrógeno (Chen y Stewart, 2002) (Kang y col., 2003).

Las sustancias poliméricas extracelulares o EPS por sus siglas en inglés, son consideradas el material primario de la matriz que conforma la biopelícula, ya que del 50% al 90% del carbono orgánico total que se encuentra en la biopelícula; proviene de EPS, el cual está formado principalmente de polisacáridos (Donlan, 2002). En el caso de las bacterias Gram-negativas, algunos de los polisacáridos son neutros o polianiónicos. La presencia de ácidos urónicos como D-glucurónico, D-galacturónicos y ácido manurónico, o piruvatos, le confieren propiedades aniónicas, lo que les permite asociarse a cationes divalentes como Ca^{2+} , y Mg^{2+} , lo que une los hilos poliméricos y le da más fuerza a la unión de la biopelícula. Para las bacterias Gram-positivas, como *estafilococcus*, la composición de los EPS es principalmente

catiónica (Donlan, 2002). El ácido urónico tiene potencial de participar eslabonando interacciones entre cationes multivalentes (Chen y Stewart 2002).

Adicionalmente, como resultado de las características del ambiente en el que desarrollan los microorganismos, es muy común encontrar dentro de las biopelículas que se desarrollan en ambientes naturales, diferentes materiales no celulares, tales como cristales minerales, arcillas, limos, arenas, y productos de corrosión, entre otros que se encontraban en el medio y que fueron atrapados por la estructura que conforman los compuestos de la biopelícula. Las biopelículas en sistemas acuáticos industriales son muy complejas, ya que además de los materiales no celulares mencionados, pueden contener diatomeas y bacterias filamentosas, además se observa que en estos sistemas, la biopelícula es muy firme y altamente resistente a desinfectantes como el cloro (Donlan, 2002).

Las biopelículas están compuestas de organismos vivos y el incremento de la velocidad del fluido provoca respuestas fisiológicas. Por ejemplo, en un caso extremo, el incremento de la velocidad puede causar el colapso de la biopelícula por completo. Solamente las biopelículas que se encuentran fuertemente unidas a la superficie pueden resistir la fuerza de arrastre que está asociada con la velocidad del fluido. Es bien sabido que las biopelículas que crecen en medios en donde el fluido tiene una velocidad alta, son más densas que aquellas que crecen en medios con velocidades de fluidos menores. Los autores creen que ese aumento en la densidad de la biopelícula es una respuesta fisiológica de ella ante el estrés; las biopelículas más densas son más resistentes a los cambios en la fuerza de arrastre asociados al cambio de velocidad del fluido (Beyenal y Lewwandowski, 2002).

La muerte estacional y la lisis celular de productores primarios, estimula la formación y crecimiento de la biopelícula, ya que ésta tiende a atrapar y reciclar componentes celulares (Costerton y col., 1987).

Cuando la biopelícula se forma en superficies de nutrientes insolubles como la celulosa, los eventos iniciales de adhesión favorecen a bacterias específicas que pueden consumir dicho sustrato. En estos casos, los colonizadores producen enzimas asociadas al consumo del sustrato produciendo nutrientes solubles que estimulan el crecimiento de organismos heterótrofos cercanos, la electrotransferencia también puede tomar lugar en este consorcio (Costerton y col., 1987).

2.2.2. Estructura de la biopelícula

2.2.2.1. Sustancias poliméricas extracelulares

Las biopelículas están compuestas principalmente de células bacterianas y EPS. Las EPS pueden contar del 50 al 90% del carbono orgánico total en peso seco (Donlan, 2002), y puede ser considerado como el principal material que constituye la matriz de la biopelícula. Las EPS pueden variar en sus propiedades químicas y físicas, sin embargo están constituidas principalmente de polisacáridos, secretados por las bacterias, pero también partículas que están en el medio pueden ser atrapados por esta matriz y pasar a formar parte de la misma. Los polisacáridos están hidratados y se encuentran en estado semisólido. El mayor contenido en la biopelícula es agua con un contenido de hasta 97% en la matriz (Sutherland, 2001). Estas estructuras se forman principalmente por la actividad de una proteína sintetizada por las bacterias, llamada lectina, la cual tiene función en la polimerización de azúcares, que son los compuestos que principalmente constituyen a la matriz (Mulvey y Hultgren, 2000).

2.2.2.2. Conformación de la biopelícula

El nombre de biopelícula es de alguna manera inapropiado, debido a que no es una monocapa continua depositada en la superficie, mas bien las biopelículas son heterogéneas, contienen microcolonias de células bacterianas dentro de una matriz de EPS y separadas por otras microcolonias como se muestra en la Fig. 2.5. Además

se observan canales donde el flujo arrastra los nutrientes que es la parte oscura de la figura, el crecimiento de las bacterias le dan una conformación tridimensional que va cambiando con el tiempo. Las partículas orgánicas e inorgánicas del medio que se adhieren a la biopelícula, de igual manera cooperan para dar el aspecto característico de la biopelícula, entre otros factores.

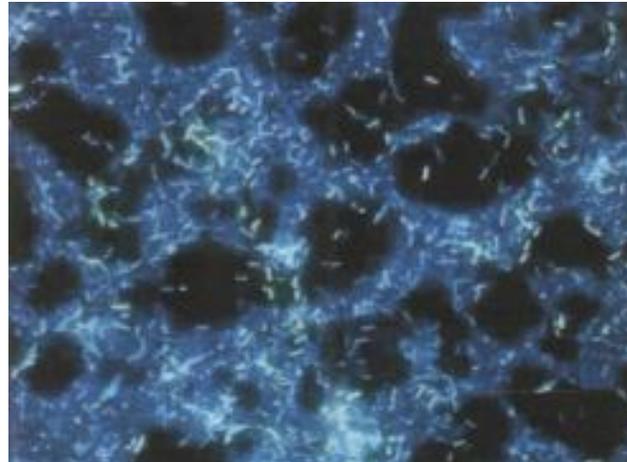


Figura 2.5. Biopelícula de *P. Aeurogenosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Flavobacterium spp.*, desarrolladas en tubería de agua potable. Foto tomada de Dolan, 2002

Hasta ahora se ha visto algunas generalidades de las biopelículas, las cuales en el proceso de corrosión tienen una gran importancia, debido a que crea microcondiciones sobre la superficie metálica provocando gradientes de concentración, temperatura, variabilidad del valor de pH, entre otros factores. Dando lugar a un gradiente de potencial sobre la superficie metálica, promoviendo la oxidación del hierro. En la siguiente sección se explicará con más detalle el proceso de oxidación electroquímica del hierro, y por lo tanto, quedará más claro el tema 1.2.

2.3. Corrosión

2.3.1. Mecanismo de corrosión

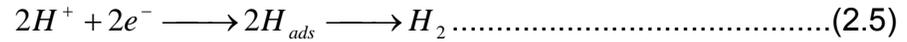
Los trabajos de Little y col. (1995), Axelsen y Rogne (1998), además de Videla y Characklis (1992), explican el mecanismo fisicoquímico de la corrosión, a continuación se explicará este mecanismo para el mejor entendimiento del fenómeno.

En todo proceso de corrosión, están involucradas reacciones de óxido reducción y la transferencia de electrones, por lo cuál es un fenómeno netamente electroquímico, en el cual las diferencias de potencial entre dos sitios causan un movimiento de electrones, lo que resulta en la oxidación del metal y también su disolución. El sitio donde la oxidación de los átomos del metal es la reacción predominante, se le conoce como ánodo y en el sitio donde se lleva a cabo la reducción de especies químicas presentes en el medio acuoso, se le conoce como cátodo. La susceptibilidad de que un metal pueda ser corroído, puede ser provisto por la magnitud de la fuerza electromotriz (fem); la fem está definida por la diferencia de potencial de la reacción catódica y la reacción que ocurre en el ánodo.

Las reacciones en el ánodo producen cationes metálicos, como se visualiza en la ecuación siguiente:



Los electrones producidos de la reacción de oxidación son simultáneamente conducidos a otros sitios en el metal donde la reducción es la reacción predominante, este sitio es conocido como cátodo. Los electrones a menudo son removidos del cátodo por reducción del oxígeno o bajo condiciones ácidas la reducción del ión hidrógeno. Las siguientes ecuaciones muestran este mecanismo:



Si los productos de la corrosión se acumulan en el cátodo, la celda está catódicamente polarizada y la disolución del metal continúa hasta que la fem decrece y la corrosión cesa; pero si los productos son continuamente removidos del cátodo, la corrosión continuará.

En las reacciones 2.4 y 2.5, la acumulación de electrones en el cátodo es evitado por la intervención del oxígeno y/o H^+ , teniendo como consecuencia la Desat. En muchos ambientes abióticos la difusión del oxígeno a la superficie metálica será el paso limitante en los procesos de corrosión, en el caso de una biopelícula anaerobia, la difusión del H^+ será el paso limitante de la reacción de corrosión.

2.3.2. Evaluación de la velocidad de corrosión por técnicas electroquímicas

Para estudiar la velocidad de corrosión de un metal, se han desarrollado algunas técnicas electroquímicas, en este estudio se realizaron dos, polarización lineal y espectroscopía de impedancia electroquímica. A continuación se desarrollará la parte conceptual de ambas técnicas.

2.3.2.1. Polarización lineal

La polarización lineal es una técnica experimental que sirve para determinar la velocidad de corrosión de un metal. Esta técnica utiliza comúnmente un potencióstato, el cuál sirve para realizar curvas de polarización, también conocidos como diagramas de Evans. En este experimento se establece el potencial de

corrosión (E_{corr}) que se da con respecto al electrodo de referencia, cuando la corriente aplicada es cero. El electrodo de trabajo es polarizado tanto anódicamente ($\text{Fe}^0/\text{Fe}^{2+}$) hacia la zona activa, como catódicamente ($2\text{H}^+/\text{H}_2$) hacia la zona noble, aplicando un sobrepotencial positivo para la reacción anódica y un sobrepotencial negativo para la reacción catódica, los cuales son de igual magnitud, a partir del E_{corr} . Al graficar el sobrepotencial (E) contra el logaritmo de la densidad de corriente (i), se obtiene el diagrama de Evans, como se muestra en la Fig. 2.6.

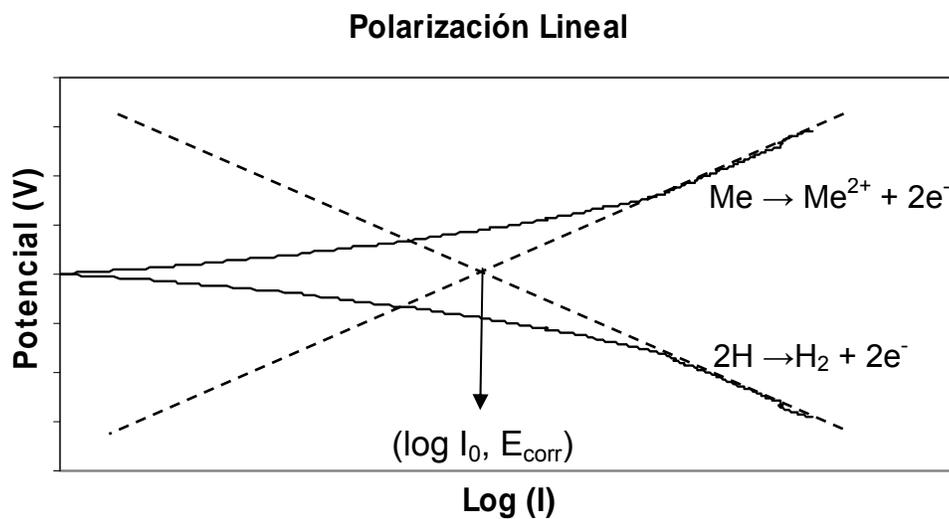
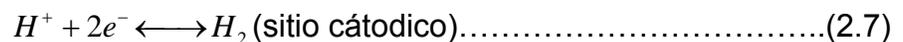


Figura 2.6. Diagrama de Evans para la estimación de la corrosión que involucra un único metal.

El comportamiento del gráfico 2.6, es debido a que en la superficie metálica se llevan a cabo dos reacciones simultáneamente; las cuales están en equilibrio, de la siguiente forma:



En los potenciales cercanos E_{corr} , se tiene contribución de las semireacciones 2.8 y 2.9, para poder estimar las velocidades de corrosión, es necesario aplicar un

potencial de 100 a 300 mV a partir del E_{corr} . Se polariza el electrodo hacia la zona activa (oxidación) o noble (reducción), con el objeto de favorecer las reacciones hacia la derecha de las ecuaciones 2.6 y 2.7, haciendo nula las semirreacciones 2.8 y 2.9 como se muestra en la figura 2.6.



Cuando ya no se tiene contribución de las reacción 2.8 y 2.9 anódica y catódica respectivamente, es posible observar el comportamiento de la línea de potencial ϕ vs $\log i$, hasta que su pendiente es constante; esta pendiente es conocida, como pendiente de Tafel (β), anódica β_a y catódica β_c , como se muestra en la Fig. 2.6. Esta pendiente de Tafel tiene su origen de la ecuación de Nernst de una semirreacción de reducción u oxidación como se muestra en la siguiente expresión:

$$\phi_c = -\frac{0.0592}{2} \log \frac{[H^{+}]}{[H_2]} \text{ o } \phi_a = -\frac{0.0592}{2} \log \frac{[Fe^{2+}]}{[Fe]} \dots\dots\dots(2.10)$$

donde:

ϕ = es el sobrepotencial para polarización catódica

$[H^{+}]$ = concentración del protón

$[H_2]$ = Concentración del hidrógeno molecular

El equilibrio de estas especies se ve favorecido hacia la reducción u oxidación, si se aplica un potencial sobre el metal. El equivalente de la expresión de Nernst, en términos de aplicación de corriente i , es la siguiente ecuación:

$$\eta_c = \beta \log \frac{i}{i_0} \dots\dots\dots(2.11)$$

donde :

i = densidad de corriente producto de sobrevoltaje a una región noble o activa

i_0 = densidad de corriente equivalente igual a la reacción en equilibrio del electrodo

η = polarización de activación

Dependiendo de si el sobrepotencial aplicado sobre la superficie es, hacia la zona noble o activa, se tendrá el comportamiento de la gráfica de la Fig. 2.6.

Para el proceso de corrosión, los equivalentes químicos del metal oxidado (Fe^{2+}) presentes en los sitios anódicos, son iguales a los equivalentes químicos de la especie que se reduce en el sitio catódico; en términos de corrosión en una superficie de metal dado, la corriente en el sitio anódico (I_a) es igual a la corriente del sitio catódico (I_c), $I_a=I_c=I_{corr}$ (corriente de corrosión). Esta I_{corr} , se obtiene interpolando la intersección de las pendientes de tafel en el eje de $\log i$.

Otra alternativa de obtener la i_{corr} , es a partir de la resistencia de la polarización, mediante la siguiente metodología (ASTM G 59-78, 1984).

Se evalúa la resistencia a la polarización (R_p), la cual se define como la pendiente de un potencial contra la densidad de corriente a valores muy cercanos del potencial de corrosión.

$$R_p = \left[\frac{d\eta_c}{di_c} \right]_{\eta_c \rightarrow 0} = \left[\frac{d\eta_a}{di_a} \right]_{\eta_a \rightarrow 0} \dots\dots\dots(2.12)$$

La i_{corr} , está dada por la siguiente expresión:

$$i_{corr} = \frac{B}{Rp} \dots\dots\dots(2.13)$$

donde B es una combinación de las pendientes anódicas y catódicas de Tafel (β_a , β_c) y está dado por:

$$B = \frac{\beta_a \beta_c}{2.303(\beta_a + \beta_c)} \dots\dots\dots(2.14)$$

Sustituyendo la ecuación 2.14 en 2.13 se tiene:

$$i_{corr} = \frac{\beta_a \beta_c}{2.303(\beta_a + \beta_c)} \frac{1}{Rp} \dots\dots\dots(2.15)$$

Para los sistemas donde la aportación de la reacción catódica es despreciable (condiciones anaerobias) entonces la expresión se simplifica a:

$$i_{corr} = \frac{\beta_a}{2.303\beta_a} \frac{1}{Rp} \dots\dots\dots(2.16)$$

Una vez calculado la Rp y las pendientes de Tafel, finalmente la velocidad de corrosión se calcula por la Ley de Faraday, que expresa que la velocidad de corrosión de una especie, está dada por la expresión:

$$V_{corr} = \frac{Ki_{corr}Peq}{\rho} \dots\dots\dots(2.17)$$

Donde:

K=0.1288 mpa•g/μA•cm para el acero al carbono SAE-1018

Peq= Peso equivalente del material (27.92 para el acero al carbono)

ρ=densidad del material (7.86 g/cm³ para el acero al carbono).

2.3.2.2. Espectroscopía de impedancia electroquímica

Se tienen evidencias de estudios de corrosión en agua de mar principalmente por pérdida de peso, o bien, se han utilizado técnicas electroquímicas tales como polarización lineal explicado anteriormente y espectros de impedancia. Sin embargo, éstos estudios han sido realizados con materiales diferentes al acero al carbono y/o diferentes electrolitos (Little y col. 1992). Desafortunadamente, las evidencias que se tienen respecto a la corrosión de acero al carbono en agua de mar por pérdida de peso no dan evidencia del mecanismo de corrosión que se forma en la interfase, y menos de la naturaleza de productos que estén presentes en la misma.

Una de las técnicas recomendables para estudiar la evolución de los mecanismos de corrosión en superficies metálicas, es la espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS por sus siglas en inglés). La EIS consiste en aplicar al sistema una perturbación sinusoidal a diferentes frecuencias. A pesar de que es una técnica difícil de interpretar, con experiencia y analizando adecuadamente los datos, esta técnica ofrece información importante acerca de la evolución de la corrosión en la interfase del material y el medio acuoso.

Como se mencionó anteriormente, al sistema se le aplica un voltaje sinusoidal $E = E_0 \sin \omega t$ (donde E_0 es la amplitud, $\omega = 2\pi\nu$ es la frecuencia angular, ν es la frecuencia y t el tiempo), del cual se obtendrá una respuesta de corriente sinusoidal $I = I_0 \sin(\omega t + \theta)$, siendo I_0 su amplitud y θ el ángulo de fase con respecto a E . La impedancia se define como $|Z| = E_0/I_0$ y su ángulo de fase es θ , como se esquematiza en la Fig. 2.7.

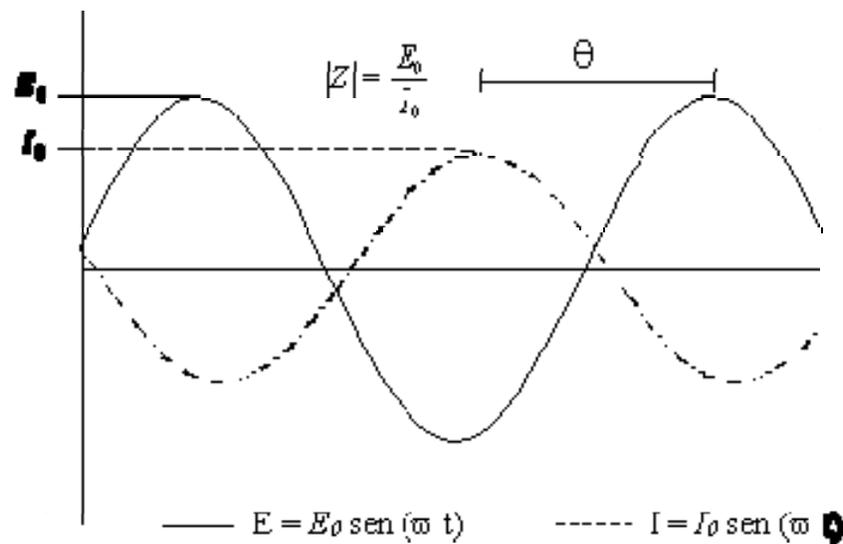


Figura 2.7. Representación de las señales de perturbación y respuesta en función del tiempo, en un estudio de impedancia.

Para obtener información acerca de la evolución de la interfase metal/líquido, se utilizan diferentes gráficas del espectro de impedancia. Existen varias representaciones de magnitudes de impedancia en un intervalo de frecuencias, para los estudios que se presentan en este trabajo, son los diagramas de Nyquist y de Bode.

2.3.2.2.1. Diagrama de Nyquist

El diagrama de Nyquist se obtiene a partir de considerar a la magnitud de impedancia como un número complejo, con un componente real y otro imaginario, tal como se muestra en la Figura 2.8 a una frecuencia determinada.

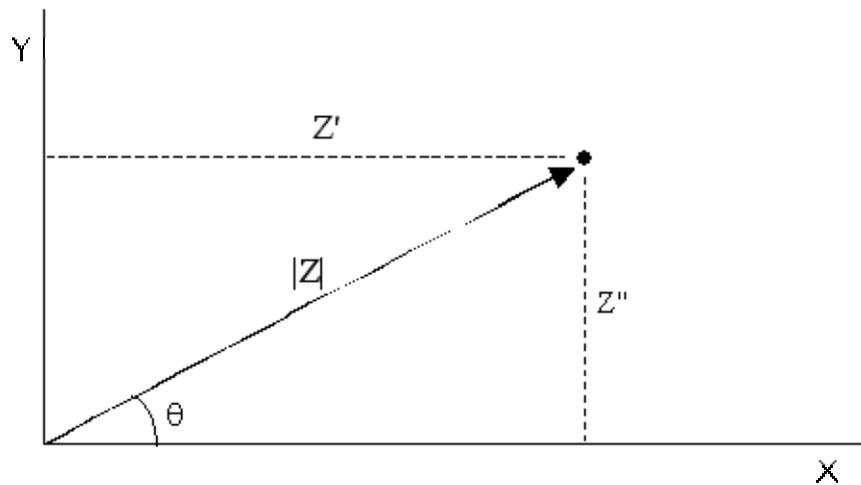


Figura 2.8. Representación de la impedancia como un número complejo.

Para obtener la magnitud de los valores de Z'' (impedancia imaginaria) vs Z' (impedancia real), se utiliza un potencióstato y la celda clásica compuesta por un electrodo de referencia, un contraelectrodo (grafito) y el electrodo de trabajo (acero al carbono). Cada punto representa un valor de impedancia real e imaginaria a una frecuencia dada; es decir, la frecuencia está implícita en el diagrama. Un gráfico de un diagrama de Nyquist se muestra en la Fig. 2.9.

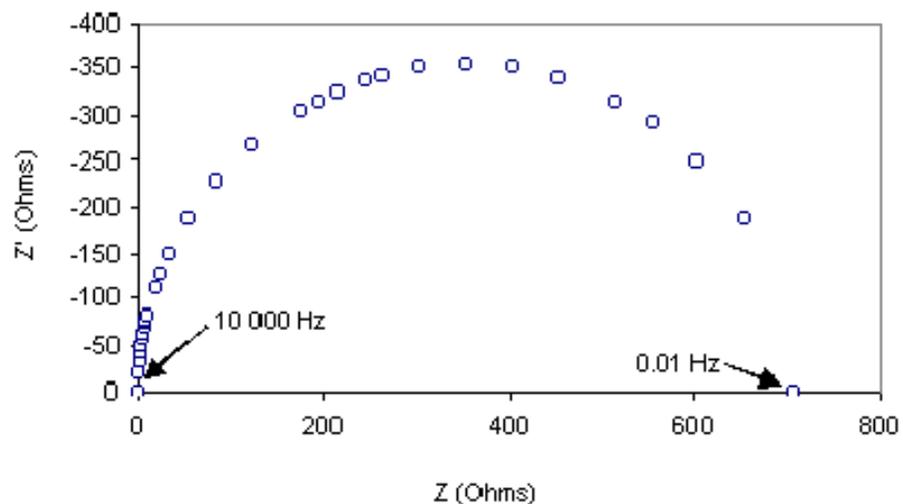


Figura 2.9. Diagrama de Nyquist , gráfica de las magnitudes de impedancia imaginaria (Z') e impedancia real (Z), a diferentes frecuencias.

En el gráfico 2.9, se observa que el valor de impedancia imaginaria es negativo y esto es debido a que existen comúnmente procesos capacitivos; en el eje real la magnitud de Z' , se deben a procesos resistivos, ambos fenómenos en la interfase metal/líquido.

Para un análisis más detallado, se realizan dos diagramas para saber la magnitud del módulo $|Z|$ y en ángulo de fase contra la frecuencia. Estos diagramas se le conocen en electroquímica como diagramas de Bode. Los dos en su conjunto, dan información de los fenómenos globales que ocurren en la interfase.

2.3.2.2.2. Diagramas de Bode

Hay dos diagramas de Bode, el primero relaciona el valor del módulo $|Z|$ vs log frecuencia (ν); mientras que el segundo relaciona el valor del ángulo de fase (θ) vs log frecuencia.

A partir de los valores obtenidos del diagrama de Nyquist de las magnitudes de Z' y Z'' , se calcula la magnitud del módulo para cada frecuencia realizada en el experimento, mediante la ecuación 2.18.

$$|Z| = \sqrt{(Z')^2 + (Z'')^2} \dots\dots\dots(2.18)$$

donde:

$|Z|$ = módulo

Z' = impedancia real

Z'' = impedancia imaginaria

Una vez obtenido el valor de impedancia neta se grafica contra el logaritmo de la frecuencia, obteniendo la forma del gráfico que se muestra en la Fig. 2.10.

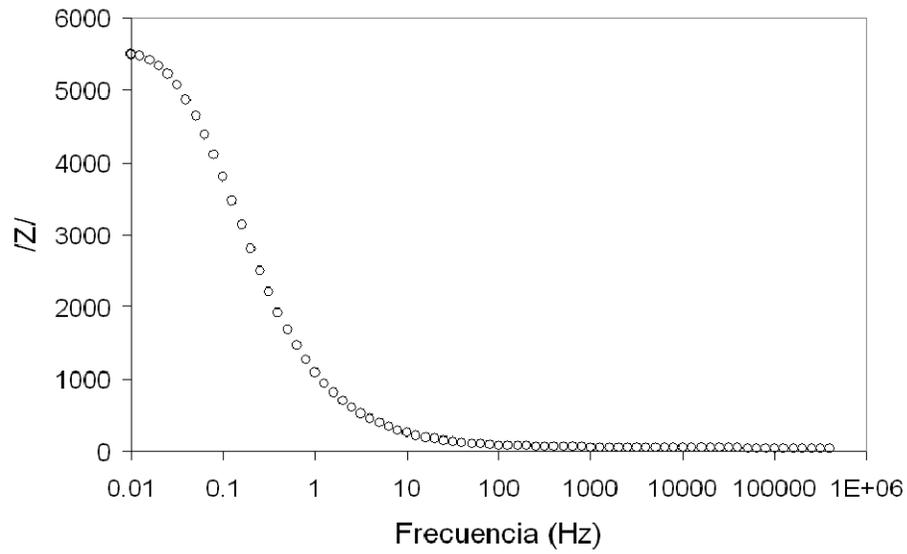


Figura 2.10. Diagrama de Bode (magnitud del módulo $|Z|$ vs log frecuencia)

Para obtener el diagrama de ángulo de fase vs frecuencia, se obtiene el valor del ángulo de fase, mediante la siguiente expresión.

$$\theta = \tan^{-1}\left(\frac{Z''}{Z'}\right) \dots\dots\dots(2.19)$$

Una vez obtenido el ángulo de fase, se grafica contra la frecuencia, para obtener el gráfico que se muestra en la Figura 2.11.

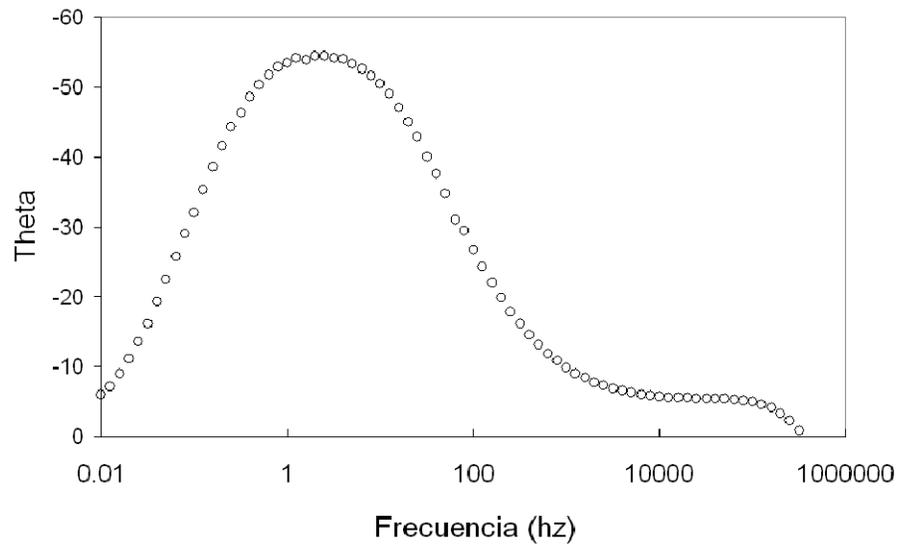


Figura 2.11. Diagrama de Bode (ángulo de fase θ vs log frecuencia)

Dependiendo del comportamiento del ángulo de fase y el módulo, se tendrá un comportamiento resistivo o capacitivo. En el proceso resistivo, la señal del potencial (E_0) y la respuesta de corriente (I_0) están en fase, es decir el ángulo es igual a cero y valor de Z' es igual a la magnitud del resistor; en el proceso capacitivo, se tiene un desfaseamiento del ángulo de 90° a diferentes valores de frecuencia.

Un proceso resistivo, está asociado a procesos de conducción y ejemplo de ello es la conductividad en el electrolito y/o a una transferencia de electrones a través de la interfase metal-electrolito. En el proceso capacitivo, se da principalmente un desfaseamiento del potencial y la corriente y está relacionado con un fenómeno de generación de un campo eléctrico que está asociado a procesos electroquímicos que produzcan polarización o separación de carga en algún lado del sistema.

Estos procesos capacitivos y/o resistivos, comúnmente se expresan mediante un circuito eléctrico, el cuál tiene una interpretación fenomenológica en la interfase metal-electrolito. Para obtener el circuito eléctrico cuya impedancia se asemeja a los datos experimentales, se simula con circuitos equivalentes en el programa

“Equivalent Circuit” de Boukamp. El modelo de circuito se propone dependiendo de las constantes de tiempo que se presenten en los diagramas de Bode. Las dispersiones de los errores obtenidos a partir de circuito propuesto, con respecto al modelado deber ser pequeña para que sea aceptado.

En el esquema 2.12, se presenta un circuito que podría representar los datos de la Figura 2.9, el cual se muestra en la siguiente Figura 2.12.

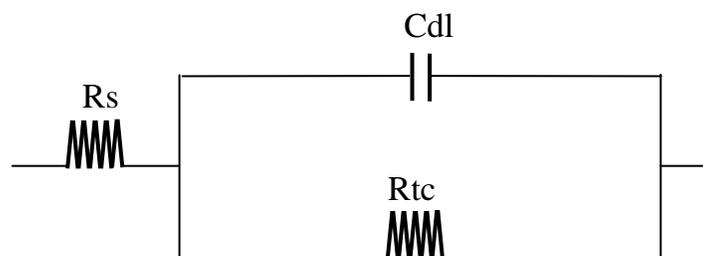


Figura 2.12. Circuito que representa los datos del diagrama de Nyquist

En el caso de este ejemplo se tienen las siguientes interpretaciones:

R_s es la resistencia de la solución

C_{dl} es la capacitancia de la doble capa

R_{tc} es la resistencia a la transferencia de carga

En este trabajo se encontrará un circuito adecuado para la representación de los datos experimentales y obtener los procesos fenomenológicos de la superficie metálica.



Antecedentes
Casa abierta al tiempo

3. ANTECEDENTES

Parte importante de este trabajo, es estudiar los procesos de corrosión inicial en la interfase acero al carbono/agua de mar, debido a que en el agua marina se tiene poca o casi nula concentración de compuestos que favorecen el crecimiento de la actividad sulfato reductora (Strickland y Parsons,1972). Estos estudios emplean principalmente técnicas electroquímicas para caracterizar los mecanismos de formación de depósitos en las superficies de acero al carbono en presencia de agua marina. Estos trabajos tienen por objeto ver el efecto que tienen los componentes de los solutos del agua de mar, en el proceso de corrosión o formación de depósitos sobre el acero al carbono. Entre estos estudios se tienen los siguientes.

Barchiche y col. (2004), realizaron un estudio para observar el efecto de la temperatura y la concentración de sulfatos en agua marina en la formación de especies incrustantes sobre acero al carbono, mediante la técnica electroquímica de cronoamperometría. Encontró que el aumento de temperatura promueve la formación de incrustaciones como dragonita y magnetita, debido al aumento en la magnitud de difusión del oxígeno, éste al reducirse forma OH^- ; desplazando el equilibrio del compuesto HCO_3^- a $\text{CO}_3^{=}$, el cuál se precipita con el calcio para formar CaCO_3 ; además, el OH^- reacciona con el ión magnesio para formar $\text{Mg}(\text{OH})_2$. Estos dos compuestos son los causantes de las incrustaciones y tienen propiedades pasivas. También realizan un estudio del efecto del ión $\text{SO}_4^{=}$, sobre la formación de estas especies incrustantes, y concluyen un efecto negativo en la formación de estas especies al aumentar la concentración del ión sulfato. También observaron que los depósitos de calcio aumentan con la temperatura imponiendo a un potencial de -1 V ; no obstante a un potencial de -1.2 V favorecen la incrustación de $\text{Mg}(\text{OH})_2$.

Hodgkiess y Lim (1993) mencionan que al ser inmerso una superficie de acero al carbono en agua de mar en presencia de oxígeno, el proceso de corrosión es principalmente del tipo galvánico, debido a la presencia de metales diferentes al Fe,

en menor proporción. En este trabajo al igual que en el anterior, se presenta la formación de incrustaciones en la interfase acero/líquido y es debido a la reducción del O_2 , el cual sigue el mismo mecanismo de formación evidenciado por Barchiche y col. (2004). Caber resaltar que en este trabajo como en el anterior, son bajo condiciones aerobias.

Respecto al estudio electroquímico de superficie de acero al carbono bajo condiciones anaerobias se tienen pocos trabajos realizados, entre los cuáles se tienen los siguientes.

Pagano y Lalvani (1994), realizaron pruebas para determinar las velocidades de corrosión de acero al carbono SAE-1018 en agua de mar en ausencia de oxígeno, aplicando diferentes potenciales. En los primeros días de exposición de la superficie al medio, la tasa de corrosión fue en promedio de 0.5 g/cm^2 y mencionan que hay una gran cantidad de especies como cloruros, sulfatos, magnesio en los depósitos sobre la superficie del acero al carbono. No obstante, realizan pruebas de polarización a valores de pH de 10-12, encontrando pasivación catódica y además de contribuir a la formación de incrustaciones debido al valor de pH.

Bajo condiciones anaerobias, Refait y col.(2003), caracterizan la superficie de acero que ha sido expuesta a agua de mar durante 25 años mediante pruebas de EDAX principalmente; determinaron que había hidroxisulfato de Fe(II) y Fe(III) en la capa de productos de corrosión. Este compuesto es atrapado en las capas que se van formando de los productos, que tienen propiedades resistivas, sobre la superficie y esta fuente de sulfato que se forma sobre los productos de corrosión, puede ser utilizado por las bacterias sulfato reductoras. Bousselmi y col.(1999), realizaron un trabajo semejante, donde estudian la corrosión de acero al carbón en un medio alto en sales y de alta dureza, mediante la técnica de EIS; en este se encontró la formación de corrosión, internamente la magnetita, posteriormente hidroxisulfatos de

Fe(II) y Fe(III), y por último oxihidróxido de hierro; concluyendo que conforme pasa el tiempo el proceso está controlado por difusión.

Angell y col. (1995), realizaron un modelamiento de la corrosión de acero inoxidable 304 en agua de mar, bajo condiciones anaerobias mediante la técnica de espectropía de impedancia electroquímica. Este modelo tiene muy buena correlación con los resultados obtenidos por los diagramas de Nyquist, evaluaron la resistencia a la polarización obteniendo valores del orden de 92300 ohms. Los diagramas mostraron un comportamiento no capacitivo del acero, mostrando que un error significativo puede afectar la estimación de las velocidades de corrosión en la mediciones de tiempo - dominio de la respuesta de polarización. Estos errores fueron mayores cuando las velocidades de corrosión fueron menores. El error puede ser significativo para velocidades de barrido de potencial de 0.1 mV/s y cuando la constante de elemento de ángulo de fase va de $0.7 < n < 0.9$; el modelo utilizado fue correcto.

En estudios de corrosión por bacterias sulfato reductoras, los estudios son muy diversos, desde caracterizar genéticamente al grupo de bacterias que pueden estar presentes en un sistema de estudio, hasta en sistemas de control para reducir la carga contaminante de efluentes de aguas residuales. Por ejemplo, Amann y col. (1992), encontraron la población sulfato reductora en una biopelícula formada en un reactor de lecho fijo, mediante técnicas de PCR (Por sus siglas en inglés polymerase chain reaction) en la región del 16S rRNA, encontrando BSR tales como, *Desulfovibrio vulgaris*, *D. desulfiricans*, *D. desulfuricans Subs. aestuari*, *D. africanus*, *D. salexigens*, *D. sapovorans*, *D. baarsii*; *Desulfomonas pigra*; *desulfuromonas acetoxidans*, *Desulfomonile tiedjei*; *Desulfosarcina variabilis*; *Desulfobacterium vacuolam*; *Bdellovibrio stolpii*; *Desulfobulbus propionuicus*, *E.coli* y *Myxococcus xanthus*. En materia ambiental, Santegoeds y col. (1998), estudiaron la dinámica de bacterias sulfato reductoras en una biopelícula proveniente de un lodo de aguas residuales. En este trabajo se determinó el perfil de concentraciones de oxígeno y sulfuro durante un intervalo de 12 semanas, encontrando que la actividad sulfato

reductora se encuentra cuando el oxígeno es consumido totalmente (0.25 mm de profundidad de la biopelícula). En el exterior de la biopelícula no se detecta sulfuro y esto es debido a que se oxida completamente hasta sulfato cuando hay presencia del oxígeno. En este experimento se observa claramente un crecimiento de biopelícula con el tiempo, alcanzando la concentración de sulfuro de 100 μM . Este estudio es interesante citarlo, debido a que en las biopelículas formadas por bacterias sulfato reductoras, la presencia de oxígeno inhibe la actividad de este grupo, y por lo tanto los EPS formados en los procesos de corrosión debe asegurarse la condición anaerobia para que pueda presentarse el proceso de MIC por BSR.

La corrosión inducida microbiológicamente, bajo condiciones anaerobias en agua de mar, se han realizados estudios en diversos materiales (acero inoxidable, níquel, cobre, entre otros), como puede rectificarse en las memorias de Little y col.(1992) y en los estudios de Mollica (1992). En estos reportes se observa una gran actividad de corrosión, evidenciadas por técnicas principalmente de polarización lineal. Cabe mencionar que los estudios que se tienen con agua de mar, fueron en condiciones aerobias y por lo tanto tienen el principal agente oxidante (O_2).

Otros estudios relacionados a la biocorrosión en acero al carbono en agua mar se tienen el caso de Jayaraman y col. (1997), que inhibe la corrosión por agua de mar utilizando biopelículas de microorganismos aerobios, teniendo mayor pérdida de metal en condiciones estériles, lo que supone que el agua marina es muy activa en la superficie de acero al carbono.

No obstante, los efectos por actividad microbiológica sobre la superficies metálicas son más comunes, y resalta la actividad por sulfato reducción, estas bacterias producen los sulfuros que reaccionan con el hierro, como han sido informado por Angell y Urbanic (2000) y Jeffrey y Melchers (2003). La mayoría de los autores coinciden en que las BSR, se ven favorecidas e intervienen directamente en los

procesos de corrosión, debido a que las bacterias utilizan como fuente de energía el H_2 , proveniente del sitio catódico en el proceso de corrosión a partir de la reducción del protón H^+ , (Axelsen y Rogne, 1998; Videla y Charaklis, 1992; Mollica, 1992 y Iverson, 2001).

Otros factores que intervienen en el proceso de corrosión, son los mostrados por Beech y Cheung (1995), mencionan que en los procesos de corrosión, los metales que pasan a fase acuosa por efecto de disolución del Fe, tienen una interacción positiva tanto en conformación de la estructura exopolimérica, como en la pared celular de las BSR. También, demostraron que este fenómeno en presencia de iones tales como Ni^{2+} , Mo^{6+} y Cr^{3+} promueven la actividad y actividad de las BSR; además evidenciaron, que estos elementos no se precipitan con el sulfuro, producto de la actividad sulfato reductora.

Romero y Col. (2002) han realizado estudios en agua de mar, utilizada en la inyección para extracción secundaria del petróleo en la industria del petróleo en México, donde se reporta la formación de una biopelícula en tuberías de inyección de acero X52 después de un tiempo de contacto de seis meses. En este trabajo se observa una nula formación de sulfuros, debido probablemente a la presencia de oxígeno en el medio. En este trabajo sólo se reporta el daño por picadura, y la formación de biopelícula, la cual se estimula agregando lactato como fuente de carbono y energía, además de nutrientes.

De los reportes anteriores, la corrosión la estudian principalmente mediante la técnica de pérdida de peso y por microscopia electrónica y técnicas electroquímicas como polarización lineal. En este trabajo se realizó el estudio del mecanismo de corrosión mediante la técnica de espectroscopia de impedancia electroquímica, debido a que da información de la naturaleza de los productos que se forman sobre la superficie metálica. Además este trabajo es uno de los primeros que trata de

explicar el mecanismo de biocorrosión en ductos de inyección de agua de mar (medio oligotrófico), el cual se realiza bajo condiciones anaerobias.



Justificación
Casa abierta al tiempo

4. JUSTIFICACIÓN

Actualmente, en la Industria del petróleo, se tiene un serio problema en los ductos que se utilizan en la inyección de agua de mar para la extracción secundaria de petróleo de los pozos petroleros en instalaciones costa afuera, debido al fenómeno de corrosión inducida microbiológicamente por bacterias sulfato reductoras. Aunque se utilizan biocidas e inhibidores de corrosión, aun se presenta el problema. Ante esta situación, surge la necesidad de estudiar el mecanismo de corrosión del acero al carbono SAE-1018 debido a las BSR, para entender los mecanismos que se dan en este fenómeno, apoyando el análisis mediante la técnica de espectroscopía de impedancia electroquímica.



5. HIPÓTESIS

En el proceso de despolarización catódica en la corrosión de acero al carbono SAE-1018, las bacterias sulfato reductoras encuentran en la superficie metálica un ambiente favorable para su actividad, debido a la evolución de hidrógeno molecular en el proceso catódico. Además de estimulación de micronutrientes provenientes de la disolución del metal al medio por el proceso de corrosión, aún estando en un medio ausente de nutrientes y carbono orgánico, como lo es el agua de mar utilizada en la inyección para la extracción secundaria del petróleo.



6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Estudiar el proceso de corrosión inducido químicamente y microbiológicamente en acero al carbono SAE-1018 en presencia de agua de mar formada en tuberías de la industria del petróleo, así como determinar los mecanismos de corrosión que se llevan a cabo en este sistema.

6.2. Objetivos particulares

6.2.1 Determinar el mecanismo de corrosión del acero al carbono en ambiente de agua de mar, mediante técnicas de polarización lineal y espectroscopia de impedancia electroquímica.

6.2.2. Determinar el mecanismo de corrosión del acero al carbono SAE-1018 por un cultivo microbiano presente en agua de mar.

6.3. Metas

6.3.2. Caracterización de agua de mar.

6.3.3. Pruebas de actividad sulfato reductora y acidogénica.

6.3.4. Realizar pruebas de actividad sulfato reductora en un cultivo mínimo.

6.3.5. Determinar las velocidades de corrosión en acero al carbono en ambiente marino, mediante la técnica electroquímica polarización lineal.

6.3.6. Caracterizar la superficie de acero al carbono en agua de mar en ausencia de oxígeno, mediante espectroscopia de impedancia electroquímica.

6.3.7. Caracterizar la interfase de acero al carbono en agua de mar en ausencia de oxígeno y en presencia de sulfuro, mediante espectroscopia de impedancia electroquímica.

*Materiales y
Métodos*

Casa abierta al tiempo

7. MATERIALES Y MÉTODOS

En una primera etapa se muestreó *in situ* agua de mar en el puerto de Veracruz, con el objetivo de reproducir poblaciones bacteriana en laboratorio y seguir con la fase experimental. Para cultivar estos microorganismos presentes en el agua de mar, se prepararon diferentes medios de cultivos específicos para bacterias acidogénicas y sulfato reductoras.

7.1. Medios específicos para Bacterias Acidogénicas y Sulfato Reductoras

7.1.1. Medio para Bacterias Sulfato Reductoras

Se preparó medio de Ravot y col.(1995) que contiene lo siguiente en g/L: NH_4Cl , 1; K_2HPO_4 , 0.3; KH_2PO_4 , 0.3; Na_2SO_4 , 2.84; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.01; KCl , 0.1; Cisteína – HCl , 0.5; Ácido Láctico, 1.8; extracto de levadura, 0.2; Peptona, 0.2; resazurina, 0.001 y NaCl , 30. Además se agregó 0.1 mL de $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ al 2% y 1.5 mL de Na_2HCO_3 al 10%.

7.1.2. Medio para Bacterias Acidogénicas

Se preparó el mismo medio del punto anterior, sólo con las siguientes modificaciones: Glucosa 3.5 g/L y sin Na_2SO_4 , ni Lactato.

7.2. Muestreo *In situ* de bacterias

7.2.1. Bacterias Sulfato Reductoras

En 2 botellas de 500 mL se adicionaron 250 mL de medio para BSR del punto 7.1.1 doblemente concentrado, posteriormente se esterilizó en autoclave durante 20 min. y

18 lb/in² de presión. Después se inoculó con 250 mL de agua de mar del Puerto de Veracruz en condiciones de esterilidad.

7.2.2. Bacterias Acidogénicas

Se utilizó el mismo procedimiento del 7.2.1., solamente que se utilizó el medio acidogénico del punto 7.1.2. doblemente concentrado.

7.3. Pruebas de actividad de los cultivos de Bacterias Sulfato Reductoras y Acidogénicas

7.3.1. Actividad de las Bacterias Sulfato Reductoras

En botellas serológicas de 120 mL, se adicionó 50 mL del medio para BSR, posteriormente se inoculó con 1 mL de cultivo obtenido del experimento 7.2.1, esta cantidad de inóculo se consideró para tener una absorbancia inicial de 0.1, que en experimentos en laboratorio es equivalente a una concentración de 1×10^2 células; el aire en el espacio de cabeza, fue sustituido por N₂ para asegurar condiciones anaerobias. Después de 2 semanas para probar actividad de BSR, se cuantificó la concentración de sulfuro mediante el método de Cord-Ruwisch (1985), el cual se describirá más adelante.

7.3.2. Actividad acidogénica

En botellas serológicas de 120 mL, se adicionó 50 mL del medio para bacterias acidogénicas, posteriormente se inoculó con 1 mL del cultivo obtenido del experimento 7.2.2, el aire en el espacio de cabeza fue sustituido por N₂ para asegurar condiciones anaerobias. Después de 1 semana para probar actividad acidogénica, se cuantificó el consumo de glucosa por la técnica de ácido dinitrosalisílico (DNS por sus siglas en inglés) y AGV por cromatografía de gases.

7.4. Ensayos de sulfato reducción en agua marina, utilizando diferentes condiciones ambientales

Se realizó un experimento en lote para analizar el consumo de sulfato y producción de sulfuros bajo 8 condiciones diferentes. Los experimentos se realizaron por duplicado en botellas serológicas de 60 mL, utilizando 50 mL de agua de mar bajo las condiciones mencionadas en la tabla 7.1.

Tabla 7.1 Condiciones para pruebas de actividad sulfato reductora

Tratamiento	Acero al carbón SAE 1018	Nutrientes 1g/L NH ₄ Cl 0.3g/L K ₂ HPO ₄ 0.3g/L KH ₂ PO ₄	Fuente de Carbono
1			-----
2		√	-----
3	√		-----
4	√	√	-----
5			Lactato
6		√	Lactato
7	√		Lactato
8	√	√	Lactato

7.5. Validación de métodos analíticos

7.5.1. Determinación de la salinidad y contenido orgánico

Se llevó a peso constante 3 cápsulas de porcelana de 15 mL, una vez a peso constante se pesaron y se obtuvo el peso P₁. Posteriormente se adicionaron 10 mL de muestra de agua de mar a las cápsulas de porcelana, previamente tratada con un

filtro con tamaño de poro de 0.22 μm y se pesó para obtener el peso P_2 . Después, las cápsulas fueron llevadas a una estufa a 100°C para deshidratar la muestra hasta peso constante y obtener peso P_3 . Finalmente, las cápsulas de porcelana se llevaron a 550°C en mufla durante 20 min., se enfrió y se obtuvo el último peso P_4 . Para obtener el contenido orgánico y salinidad se aplican las siguientes ecuaciones:

$$\text{salinidad}[\text{g} / \text{L}] = \frac{P_4 - P_1}{\text{Vol.muestra}} \dots\dots\dots (7.1)$$

$$\text{Contenido - orgánico} = \frac{P_4 - P_3}{\text{Vol.muestra}} \dots\dots\dots (7.2)$$

Este método, no puede cuantificar exactamente el contenido orgánico, debido a que en la deshidratación de la muestra a 100°C, se pueden perder compuestos orgánicos volátiles, que no son considerados en el cálculo de la expresión 7.2.

7.5.2. Determinación de la concentración del ión bicarbonato en agua de mar

La determinación se realizó por el método reportado por Strickland y Parson (1972), consiste en lo siguiente:

Se tomó 25 mL de una solución de ácido clorhídrico a 0.01 N en un vaso de precipitado de 200 mL, posteriormente se adicionó 100 mL muestra de agua de mar, se mezclan ambas soluciones; después, el pH resultante es medido y sirve para obtener la actividad del ión hidrógeno a_H , la cuál es calculada por la siguiente expresión:

$$a_H = N \times 10^{-\rho} \dots\dots\dots (7.3)$$

El valor de pH obtenido en la mezcla agua de mar/solución HCl, es igual a $Q + v$, donde Q es el número entero del valor de pH y v es la parte decimal del valor de pH, El valor de N se encuentra en función de v en la tabla del Anexo 1.

Después la alcalinidad total, se encuentra aplicando la siguiente expresión:

$$\text{Alcalinidad} - \text{total} = 2.5 - (1250 \times a_H / f) \dots\dots\dots(7.4)$$

Donde f es un factor que está en función de la salinidad y concentración de cloruros, este factor se obtiene de la tabla mostrada en el Anexo 2.

Por último, la concentración del ión carbonato se calcula mediante la siguiente expresión:

$$\text{carbonato} = \text{alcalinidad}_{\text{total}} - A \dots\dots\dots(7.5)$$

El valor de A , se obtiene por la tabla mostrada en el Anexo 3. El resultado se obtiene en mili-equivalentes/L

Finalmente para obtener la concentración en mg/L, se obtiene mediante la siguiente ecuación:

$$[CO_3^{=}] = \text{meq} \times 30 \dots\dots\dots(7.6)$$

7.5.3. Medición de glucosa

Se cuantificó glucosa mediante el método de DNS reportado por Miller (1959). El método consiste en preparar el reactivo de DNS con la siguiente composición en g/L: ácido 3,5-dinitrosalicílico, 10; Fenol, 2; Sulfito de sodio, 0.5 e Hidróxido de sodio, 10.

Posteriormente se agrega 1 mL de la solución de DNS y 1 mL de muestra que contiene el azúcar reductor (glucosa en el caso de este estudio) en un tubo de ensayo de ensayo de 15 mL con tapa roscada; después se calienta en baño maría por un tiempo de 15 min. Se deja enfriar hasta llegar a temperatura ambiente y posteriormente se completa con agua destilada hasta un volumen de 10 mL en cada muestra. Se leyó en un espectrofotómetro marca espectral model 21D a una longitud de 540 nm. La curva estándar se muestra en la Fig. 7.1, donde se observa una buena correlación de 0.993.

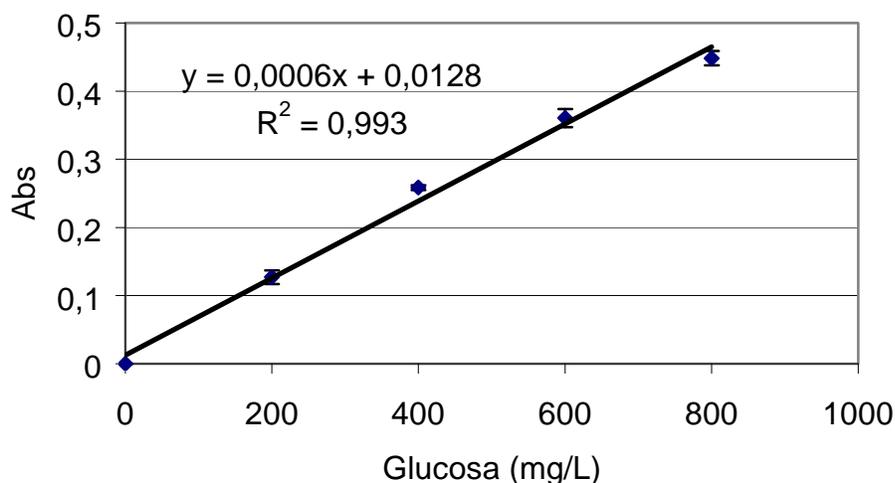


Figura 7.1. Curva estándar de glucosa

7.5.4. Medición de ácidos grasos volátiles por cromatografía de gases

Se utilizó un cromatógrafo de gases con detector FID, columna AT-100 de 10 m, 0.53 de diámetro y película de 0.2 μ m. La temperatura del horno fue de 120°C, del inyector fue de 130°C y del detector de 150°C. La curva estándar se muestra en la Fig. 7.2.

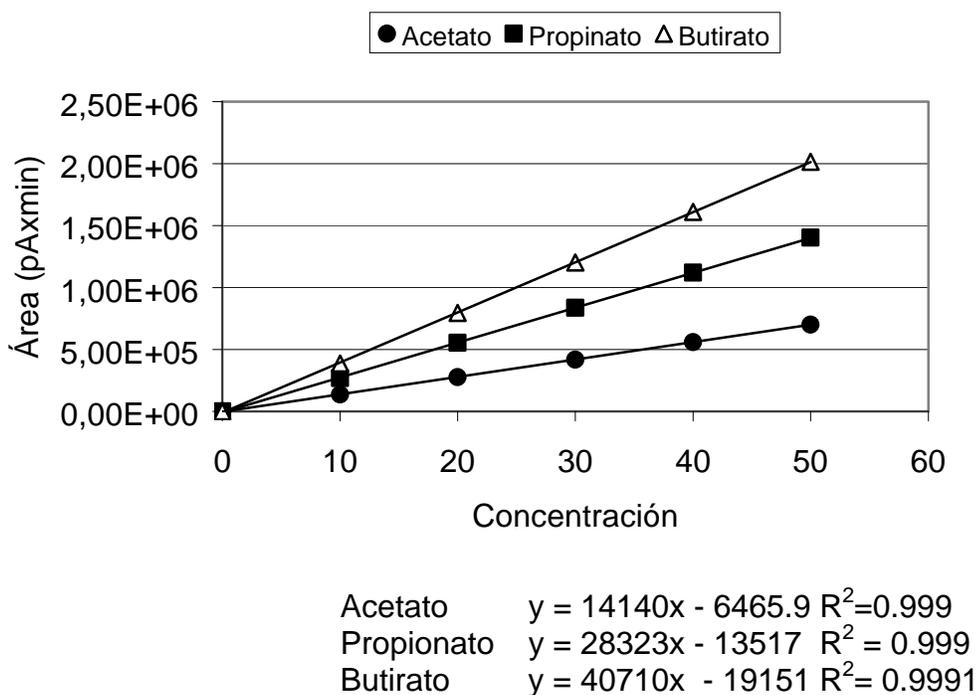


Figura 7.2. Curvas estándar de ácidos grasos volátiles

7.5.5. Medición de iones sulfatos, cloruros y fosfatos mediante electroforesis capilar

La concentración de aniones SO_4^- , Cl^- y $PO_4^{=}$, se analizó por Electroforesis Capilar. Se emplea una columna de sílica fundida de 60x70 m. Las condiciones son las siguientes: Fuente de poder negativa, Voltaje aplicado 20 kv, Corriente de 18 a 20 (A), Temperatura de 25 °C, la lámpara de mercurio fue UV a 254 nm. Electrolito usado de 4.6 mM de Na_2CrO_4 , 0.46 mM de CIA-Pak OFM anion BT, a pH de 8. La curva estándar del ión sulfato se puede observar en la Fig. 7.3, donde se observa una magnitud de correlación de 0.9915.

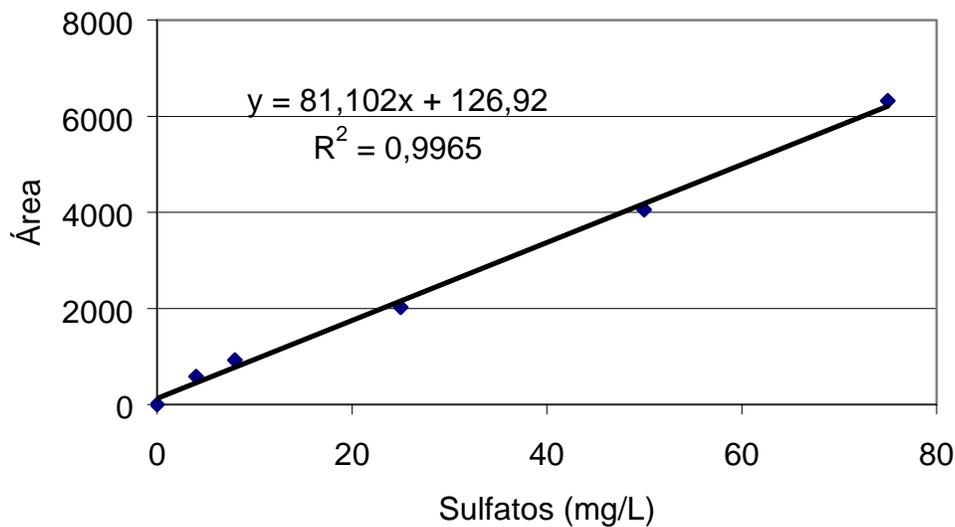


Figura 7.3. Curva estándar de ión sulfato.

7.5.6. Medición de sulfuros

El método de sulfuros fue cuantificado por el método de Cord-Ruwisch (1985). Consiste en leer colorimétricamente el sulfuro de cobre, formado por la precipitación del sulfuro disuelto producto de la respiración de las BSR. El método consiste en preparar una solución de cobre que contiene en g/L: HCl, 1.825 y $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 1.25.

Para la preparación de la solución estándar, se hirvió agua destilada para eliminar el oxígeno disuelto, el agua caliente se enfrió con una corriente de nitrógeno hasta tener la temperatura ambiente, con esta agua se preparó la solución madre de $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ a una concentración de 24 g/L y se almacenó en una ampolleta de 60 mL herméticamente cerrada y se reemplazó el aire con N_2 en el espacio de cabeza. Después en un tubo de ensaye de 10 mL se agregó 4 mL de la solución de cobre y 0.1 mL de las soluciones a diferentes concentraciones de sulfuro o de muestra de los tratamientos de sulfato reducción mediante una jeringa de insulina de 1 mL, inmediatamente después se agitó por 5 segundos y la muestra fue leída a una

longitud de onda de 480 nm en un Espectrofotómetro marca Espectronic modelo 21D. La curva de calibración de concentración de sulfuros se muestra en la Fig. 7.4.

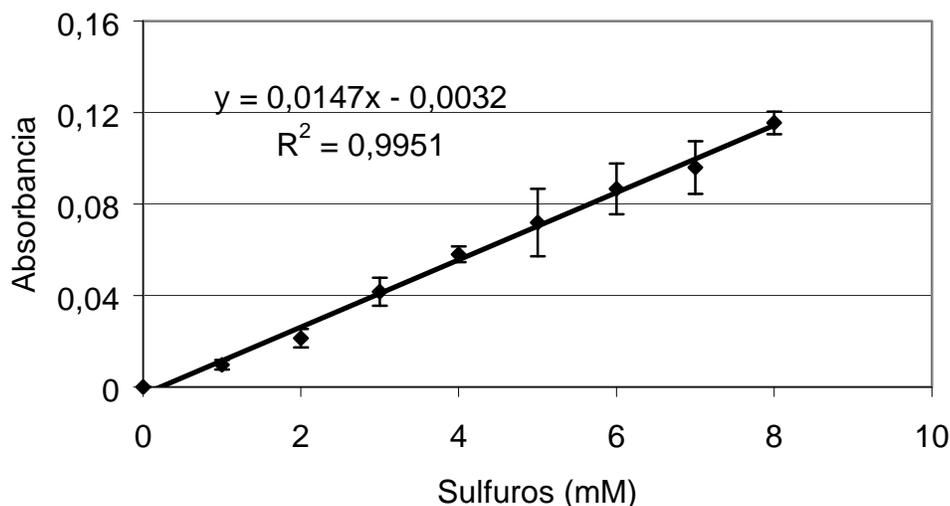


Figura 7.4. Curva estándar de sulfuros.

7.6. Pruebas electroquímicas

7.6.1. Celda electroquímica

Para llevar a cabo los experimentos se utilizó una celda electroquímica típica de tres electrodos (electrodos de trabajo, referencia y contra electrodo). El volumen del recipiente es de 400 mL, con una capacidad de hasta 5 porta-electrodos.

7.6.2. Electrodo de Trabajo

El electrodo de trabajo fue construido a partir de una barra de acero al carbono SAE-1018 de 3/16" de diámetro. La composición de acero al carbono se muestra en la Tabla 7.2. El electrodo de trabajo tiene un área superficial de 0.18 cm² y se encuentra insertado en un soporte de teflón como se muestra en la Fig. 7.5, este

soporte permite que se enrosque en el porta electrodo y que la barra de acero esté en contacto con la corriente eléctrica. En la parte media del teflón y el metal se selló con una mezcla de resina poliéster con estireno.

Tabla 7.2. Composición química del acero al carbono SAE-1018

Tipo	% Carbono	% Manganeso	% Fósforo	% Azufre
1018	0.14-0.20	0.60-0.90	0.03	0.035

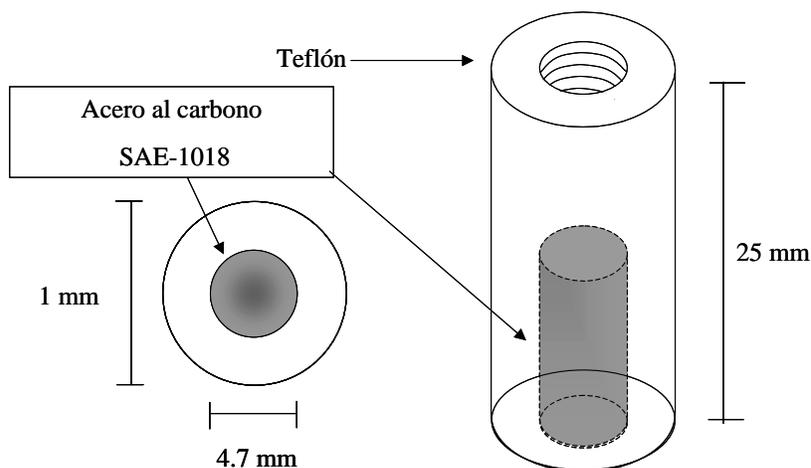


Figura 7.5. Esquema del electrodo de trabajo

Previo a cada experimento, la superficie del electrodo de trabajo fue pulida mecánicamente con una lija de SiC de grado 200, posteriormente con una lija de grado 400 y finalmente con una lija de grado 600. Por último la superficie del electrodo fue sometida a un baño con acetona y se aplicó ultrasonido durante 5 minutos para eliminar los posibles residuos del pulido.

7.6.3. Electrodo de referencia

Se utilizó un electrodo de referencia de calomel saturado (SCE por sus siglas en inglés), el cual consiste de mercurio en equilibrio con el ión Hg_2^{2+} , en el cual la

actividad está determinada por la solubilidad del Hg_2Cl_2 en una solución saturada de KCl ($\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_{2(s)}/\text{KCl}_{(\text{sat.})}$).

7.6.4. Contraelectrodo

Como contraelectrodo se utilizó una barra de grafito de 6 mm de diámetro y 10 cm de largo.

7.6.5. Polarización Lineal

El equipo utilizado para las pruebas de polarización, tanto cíclica como lineal fue un Potenciostato-Galvanostato marca Auto-LAB y una PC para la adquisición de datos, utilizando el software de la misma compañía. Se utilizó un disco rotatorio a diferentes revoluciones por minuto (0, 500, 1000, 2500 y 5000 rpm)

7.6.6. Espectroscopia de impedancia electroquímica

El equipo utilizado para obtener los diagramas de espectroscopia de impedancia fue un Potenciostato/Galvanostato EG&G Modelo 283 acoplado a un equipo generador de frecuencias Solartron SI 1260. Las condiciones de experimentación fueron las siguientes:

- Intervalo de frecuencias: 400000 Hz – 0.01 Hz
- Potenciostática: $E_{\text{corr}} \pm 10$ mV
- 10 puntos por década

Para simular el efecto de las bacterias sulfato reductoras, debido a la producción de sulfuros, se realizaron espectros de impedancia electroquímica para estudiar la evolución de los productos que se forman sobre la interfase de acero al carbono SAE-1018 y agua de mar, en ausencia y presencia del ión $\text{S}^{=}$ (4×10^{-4} M de

Na₂S•H₂O) durante un período de 10 días, los espectros se obtuvieron a diferentes intervalos de tiempo, utilizando durante el experimento un solo electrodo de acero al carbono. Cabe resaltar que los experimentos se realizaron en condiciones anaerobias, mediante la purga del espacio de cabeza de la celda electroquímica con nitrógeno, simulando las condiciones de los ductos cuando la corrosión es inducida por actividad sulfato reductora. Para lograr la condición anaerobia, se realizó cambio de atmósfera en la celda electroquímica y se selló completamente, cada tres días se realizó un nuevo cambio de atmósfera para eliminar el posible oxígeno que se haya infiltrado.

7.6.7. Solución de trabajo

La solución para estudiar los productos de corrosión, fue agua de mar sintética, cuya composición, se muestra en la tabla 7.3. La forma de preparación se realizó mediante el procedimiento descrito en la norma ASTM D 665-02 (2002). El pH se ajustó a un valor de 7.8 con una solución de 0.1N Na₂CO₃.

Tabla 7.3. Composición del agua de mar sintética

Compuesto	Concentración (mg/L)	Concentración (mM)
NaCl	24540	420
Na ₂ SO ₄	4094	29
MgCl ₂ •6H ₂ O	11100	55
CaCl ₂	1160	10
SrCl ₂ •6H ₂ O	40	0.15
KCl	690	9
NaHCO ₃	200	1.5
KBr	100	1.2
H ₃ BO ₃	30	0.5
NaF	3	0.15
Cl ⁻ total	19838	560
HCO ₃ ⁻ total	166	2.72
SO ₄ ²⁻ total	2769	29
Ca ²⁺ total	419	10.5
Mg ²⁺ total	1327	55
Salinidad total	41957	-----

Resultados y Discusión

Casa abierta al tiempo

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Caracterización del agua de mar

Del muestreo *in situ* del agua marina en el puerto de Veracruz, se realizó un análisis de algunos parámetros fisicoquímicos que intervienen en el proceso de biocorrosión, tales como salinidad, cloruros, sulfatos, nitratos, fósforo, carbohidratos, ácidos grasos volátiles y contenidos de cloruros. Los resultados de la caracterización del agua marina se muestran en la Tabla 8.1.

Tabla 8.1 Caracterización del agua marina

Parámetro	Concentración			
	Agua de mar analizada		Agua de mar sintética	
	mg/L	mM	mg/L	mM
Salinidad	37,390 ± 150	-----	41,957	-----
Cloruros	17,800 ± 400	501 ± 11	19,838	560
Sulfatos	1527 ± 8	15.9 ±	2769	29
Bicarbonatos	167 ± 5.74	2.73 ±	166	2.72
Nitratos	N.D. ¹	-----	N.C. ²	-----
Fosfatos	N.D.	-----	N.C.	-----
Carbohidratos	N. D.	-----	N.C.	-----
AGV	N.D.	-----	N.C.	-----
Contenido orgánico	N.D.	-----	N.C.	-----
pH (unidades de pH)	7.8	-----	N.C.	-----

1 N.D. No se detectó

2. N.C. No contiene este compuesto

Comparando la composición química del agua de mar sintética, estandarizada para medir la herrumbre con una composición mostrada en la Tabla 7.3 (ASTM-D 665-02)

con el agua de mar analizada, se observan grandes similitudes. En la tabla 8.1 se tiene una salinidad total en el agua de mar sintética de 41.95 g/L, cloruros 19.84 g/L, Sulfatos 2.76 g/L y HCO_3^- 0.166 g/L; respectivamente difieren en 12%, 0.6% y 11% con respecto al agua marina analizada; la concentración de sulfatos, es 1.8 veces más grande, bajo esta circunstancia en el proceso de corrosión puede modificar el proceso, debido a cambios en la cinética bioquímica o electroquímica del medio, debido a que el sulfato forma sales de hierro y es el aceptor final de electrones de las BSR. En cuanto a la ausencia de carbohidratos, AGV y nutrientes como fósforo y nitrógeno en agua marina del puerto de Veracruz, limitará el crecimiento microbiano, debido a que promoverá un metabolismo desasimilativo, y daría como consecuencia un crecimiento lento o nulo (Costerton y col. 1995). No obstante se puede tener actividad sulfato reductora bajo estas condiciones, debido a que la actividad no necesariamente tiene que estar asociada al crecimiento microbiano.

8.2. Pruebas microbiológicas

8.2.1. Muestreo *in situ* de Bacterias Acidogénicas y Sulfato Reductoras

Para ver la factibilidad de corrosión inducida microbiológicamente, se estudió la actividad acidogénica y sulfato reductora, con ello se puede relacionar la presencia de estas poblaciones en el proceso de corrosión. En el punto 7.2 se describe el procedimiento que se realizó para obtener microorganismos acidogénicos y sulfato reductores de un *habitat* marino. Los organismos que crecieron en cada cultivo, se mantuvieron mediante reinoculación, con el objetivo de concentrar células acidogénicas y sulfato reductoras para posteriores estudios.

Después de obtener el crecimiento celular, se cuantificó la concentración final de glucosa, AGV y valor de pH para las bacterias acidogénicas (AC). En la tabla 8.2 se muestran los resultados de la actividad acidogénica después de una semana de ser inoculadas.

Tabla 8.2 Actividad acidogénica en medio de Ravot modificado

	Inicio	Final
Glucosa (mM)	23.3	2.5
AGV (mM)*	0	4.83
pH	7.8	4.94

* AGV como ión acetato

De los resultados de producción de AGV, se presume la presencia de microorganismo acidogénicos en el agua marina, estos organismos pueden crecer en agua de mar, propiciando el proceso catódico en el fenómeno de corrosión del acero al carbono SAE-1018 bajo condiciones anaerobias, siempre y cuando existiera la cantidad necesaria de fuente de carbono. En la Fig. 8.1 se observa una imagen de microscopía electrónica obtenida en el medio de cultivo.

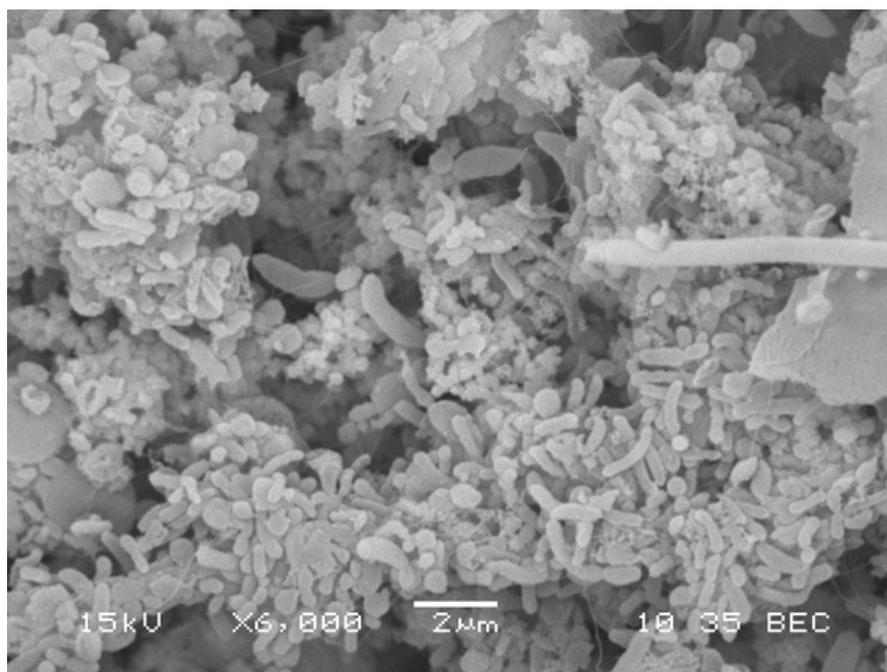


Figura 8.1. Microscopía electrónica de Bacterias Acidogénicas obtenidas en medio de Ravot modificado.

En lo que respecta al crecimiento de las BSR en medio de Ravot (ver punto 7.1.1), se llevaron a cabo dos experimentos diferentes, variando la fuente de carbono y

energía; en el primero se utilizó lactato (1.8 g/L) como fuente de carbono y energía; mientras en el segundo experimento se utilizó H₂ y CO₂ como fuente energía y carbono respectivamente, en una atmósfera de 70 % N₂ y 30 % CO₂. Después de una semana se cuantificó la concentración de sulfuro, obteniendo los resultados mostrados en la tabla 8.3.

Tabla 8.3 Actividad sulfato reductora en medio de Ravot

Concentración de sulfuros (mM)	
Lactato	H ₂ /CO ₂
19.5	18

De los resultados mostrados en la tabla 8.3, al igual que en el caso de las bacterias acidogénicas, es evidente la presencia de colonias de bacterias sulfato reductoras en el agua marina por la producción de sulfuro. Hay que recordar que la presencia de las BSR, promueve los procesos anódicos, debido a que las BSR reducen el ión sulfato a bisulfuro, este ión en presencia del ión ferroso forma precipitados como FeS, este compuesto en medio acuoso es poco adherente y se pierde en el medio, de aquí la importancia de evidenciar la presencia de este grupo de bacterias. En la Fig. 8.2 se muestra la fotografía de microscopía electrónica obtenida de este experimento.

En la imagen obtenida mediante microscopía electrónica de barrido de BSR a partir del medio de Ravot (Fig. 8.2), se observa la generación de EPS. Esta sustancia es sintetizada por las mismas bacterias, tal como lo demuestran los trabajos de Beech y Cheung (1995), Zinkevich y col. (1996) y pueden tener diferente composición de polisacáridos y algunas veces proteínas. En este tipo de bacterias, los polisacáridos se forman a partir de monómeros básicos, tales como la manosa, glucosa, xilosa y ribosa principalmente. No obstante, en medios altamente oligotróficos (bajas concentraciones de carbono y nutrientes) como el agua de mar utilizada en este trabajo, la producción de polisacáridos es mínima o nula prácticamente; debido a la

poca energía que se tiene en el sistema representativo de los ductos de acero al carbono. Sin embargo, hay disponible H_2 , debido a la reducción del ión H_3O^+ en el proceso catódico de la corrosión de acero al carbono; además hay presencia en el agua de mar del ión bicarbonato, ambos susceptibles de ser utilizados por las BSR como fuente de energía y carbono respectivamente; lo que sugiere que es posible tener actividad microbiana por BSR

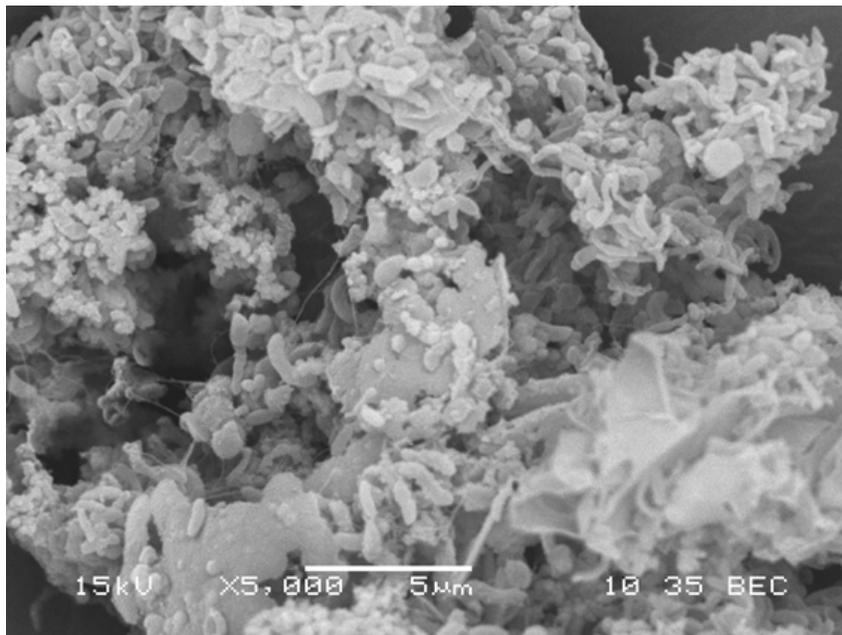


Figura 8.2 Bacterias Sulfato Reductoras obtenidas en el medio de Ravot

De los resultados mostrados en las imágenes 8.1 y 8.2, se tiene una disyuntiva de estudio. Por un lado, se tiene la viabilidad de tener procesos de MIC, debido a la presencia de bacterias AC y BSR en el agua de mar; mientras que con lo que respecta a la caracterización del agua de mar que se utilizó en este estudio, no existen condiciones favorables para una actividad acidogénica (debido a la ausencia de productos orgánicos). Por tal motivo la contribución de procesos catódicos debido a la actividad acidogénica es mínima. Esta probabilidad de actividad es mayor para las BSR, debido a que pueden desarrollarse en condiciones litoautótrofas, por tal razón se plantearon los siguientes experimentos que a continuación se describen.

8.2.2. Actividad de Bacterias Sulfato Reductoras en agua de mar bajo diferentes condiciones ambientales

A pesar de la baja actividad acidogénica en los sistemas de inyección para extracción secundaria del petróleo, la posibilidad de tener actividad sulfato reductora en el proceso de MIC, aun es viable; debido a que estas bacterias pueden tener actividad litoautótrófica, utilizando H_2 como fuente de energía y el ión bicarbonato como fuente de carbono. Para estudiar la actividad sulfato reductora, se estructuró el experimento descrito en el inciso 7.4, con el objetivo de comparar diferentes condiciones ambientales (fuente de carbono y energía, presencia de nutrientes y presencia de metal), para observar el efecto en la actividad de las BSR. Las combinaciones experimentales se observan en la tabla 7.1, que se muestra nuevamente a continuación.

Tabla 7.1 Condiciones para pruebas de actividad sulfato reductora

Tratamiento	Acero al carbón SAE 1018	Nutrientes 1g/L NH_4Cl 0.3g/L K_2HPO_4 0.3g/L KH_2PO_4	Fuente de Carbono
1			-----
2		√	-----
3	√		-----
4	√	√	-----
5			Lactato
6		√	Lactato
7	√		Lactato
8	√	√	Lactato

Los resultados que mostraron mayor velocidad de producción de sulfuros, fueron en los que se utilizó lactato como fuente de carbono y energía a una concentración de 1.8 g/L. En la Fig. 8.3 se observan los resultados obtenidos para diferentes

tratamientos utilizando lactato como fuente de carbono y energía (Tratamientos del 5 al 8 de la Tabla 8.4).

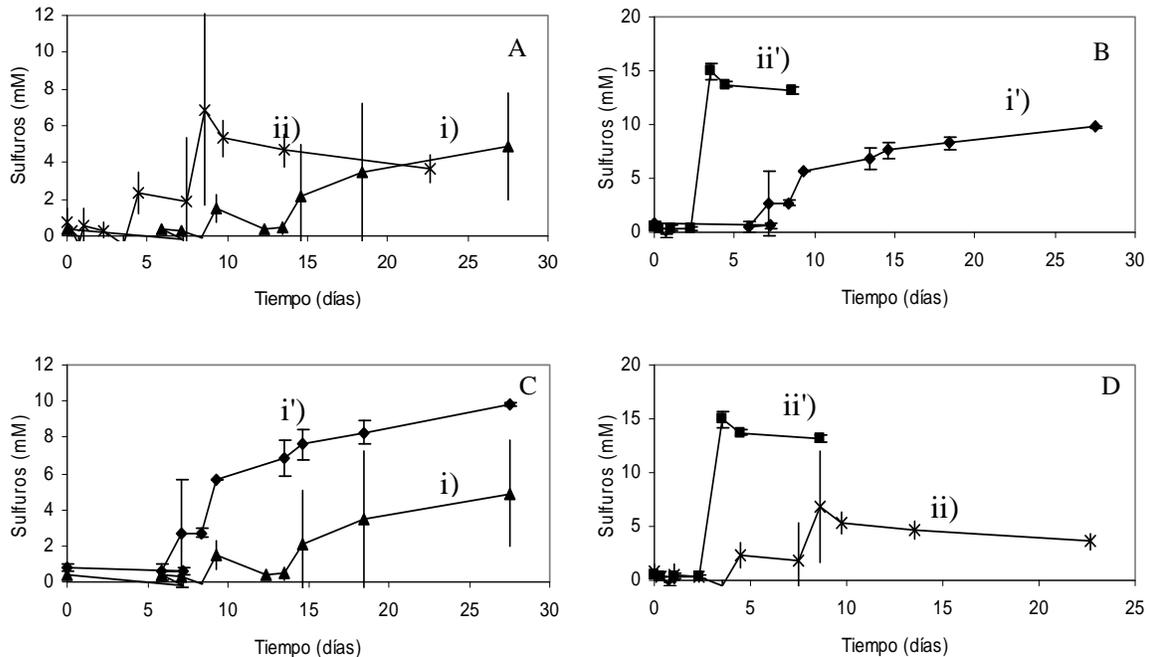


Figura 8.3. Producción de sulfuro a través del tiempo en agua marina bajo las condiciones siguientes: i) Lactato, ii) Lactato + Nutrientes, i') Lactato + Metal y ii') Lactato + Nutrientes + Metal.

En la Fig. 8.3 incisos A y B, tienen por objeto evidenciar el efecto de los nutrientes (fósforo y nitrógeno) en la actividad sulfato reductora, en los sistemas sin y con metal respectivamente; en la Fig. 8.3 incisos C y D, se comparan los tratamientos para determinar la influencia del metal en la actividad de las BSR.

En la Fig. 8.3 A, el efecto de los nutrientes (ii) no queda muy claro con respecto al tratamiento sin nutrientes (i), ya que se observan grandes variaciones experimentales, indicando que no hay diferencia significativa en el efecto de los nutrientes para estas dos condiciones ambientales.

En la Fig. 8.3 B, el efecto de los nutrientes en los sistemas con presencia del acero al carbono SAE-1018 es visible, en la combinación ii' hay una mayor actividad que en la combinación i', esto es debido a que el nitrógeno y fósforo son esenciales para la estructura celular y el fósforo para el catabolismo, provocando mayor crecimiento celular y por lo tanto mayor actividad de reducción de sulfato a sulfuro. En este experimento, también se evidenció que no necesariamente debe haber nutrientes para tener actividad sulfato reductora (combinación i'), basta con una fuente de carbono como es el lactato, CO₂ o algún ácido orgánico volátil que pueda ser asimilado por las BSR.

En lo que respecta al análisis de los recuadros C y D de la Fig 8.3, el objetivo fue comparar el efecto del metal en los tratamientos sin y con nutrientes respectivamente. En esta comparación se observa que los tratamientos i') y ii') fue notable la actividad sulfato reductora en comparación con los tratamientos sin metal (i y ii); esto se puede explicar considerando la hipótesis propuestas de Axelsen y Ronge (1998) además de Videla y Characklis (1992), donde describen el mecanismo de despolarización catódica por actividad sulfato reductora, la cual consiste en la reducción de los H₃O⁺ a H₂ en la superficie metálica debido a la oxidación del hierro, tal como se describió en el punto 2. La producción de H₂ estimula la actividad de las BSR, ya que este compuesto es utilizado como fuente de energía por diversos géneros de sulfato reductoras (Holt y col. 1994). Otro factor posible que modificó la actividad sulfato reductora en los tratamientos en presencia de acero al carbono SAE-1018, es debido a que en el proceso de corrosión, en el sitio anódico se disuelve el hierro junto con otros elementos presentes en la composición del metal, tales como Mn, P, S, Ni, Mo, Cr, entre otros (Beech y Cheung, 1995). Estos elementos juegan el papel de microelementos, fomentando la velocidad de crecimiento y/o actividad de las BSR, se han observado casos similares en procesos de biolixiviación, en donde la presencia del mineral fomenta la actividad microbiana, debido a la presencia de microelementos (Brierley y Brierley, 2001).

Los resultados anteriores muestran un efecto positivo por la presencia de metal y la posible contribución de un suministro de energía por la producción de H_2 en el proceso catódico utilizado en la actividad sulfato reductora. Este resultado tiene efecto trascendental en este trabajo; debido a que en los experimentos del 1-4 de la tabla 7.1, tienen por objeto estudiar la actividad sulfato reductora en agua de mar solamente, sin adicionar ninguna fuente de carbono ajena a la naturaleza de la composición mencionada en el punto 8.1. En esta serie de tratamientos se cuantificó la producción de sulfuros y el consumo de sulfatos durante un período de 7 meses, donde no se observó consumo de sulfato y producción de sulfuro.

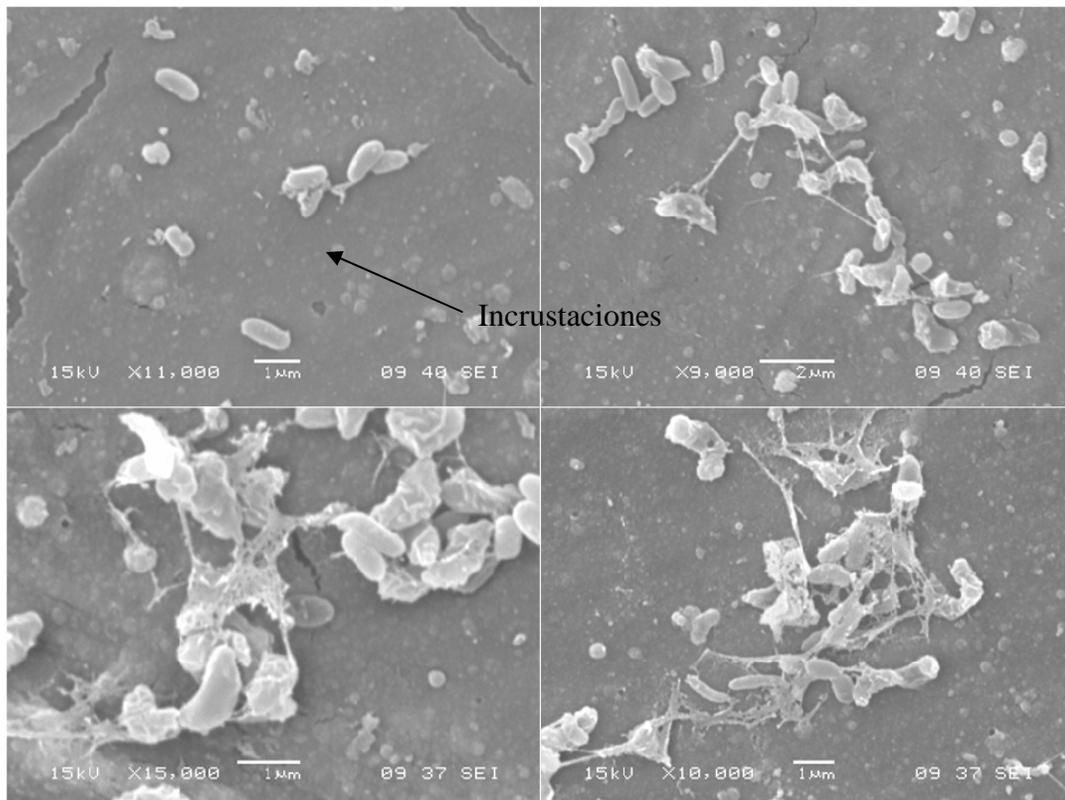


Figura 8.4. Bacterias Sulfato Reductoras en cupones de acero al carbono, en agua de mar durante un período de 7 meses

En la Fig. 8.4, se muestra las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido para el tratamiento 3 de la tabla 7.1, se puede observar sobre el cupón de acero al carbono SAE-1018 en agua de mar, la presencia de microorganismos

colonizando la superficie y la formación de biopelícula; así como la presencia de incrustaciones. Se realizó un análisis mediante EDAX, para analizar la composición de la superficie metálica con el objeto de identificar si en los productos de corrosión se encuentra azufre y que naturaleza química tiene. Se encontró la siguiente composición elemental en la superficie metálica: C, 19.83%; O, 7.82%; S, 2.15% y Fe, 70.19%; considerando esta composición se presume que la naturaleza del azufre es de sulfuro, debido a que termodinámicamente el sulfuro de hierro es más estable y además si fuera sulfato la relación O/S debería de ser de 4, y se tiene una relación O/S de 3.65, por lo que se tienen especies de FeS entre otros. Por lo tanto se puede suponer que los microorganismos que se muestran en la Fig. 8.4 son bacterias sulfato reductoras. Romero y col. (2002), obtuvieron una formación de biopelícula en un período de seis meses en soporte parecido al acero al carbón SAE-1018, lo que contrasta de este trabajo, es que estimulan el crecimiento de BSR mediante una fuente de carbono de fácil asimilación para estas bacterias. Este hecho produce un sesgo para el estudio en el mecanismo de corrosión del acero en ambiente marino bajo condiciones anaerobias, debido a que la fuente de carbono (lactato comúnmente) puede interaccionar con la superficie metálica.

Con este experimento se demostró que las BSR pueden contribuir al proceso de corrosión del acero SAE-1018 de ductos que transportan agua de mar para la inyección secundaria del petróleo, aunque a una velocidad de crecimiento bacteriana lenta y por lo tanto una velocidad lenta de biocorrosión del acero al carbono.

8.3. Técnicas electroquímicas

Las evidencias experimentales de la actividad sulfato reductora en el proceso de MIC, indicaron poca actividad durante un tiempo de 7 meses. Sin embargo, durante este tiempo, la contribución del agua de mar en el mecanismo de corrosión puede ser considerable. Por tal motivo, se planteó estudiar la contribución de la corrosión de acero al carbono por agua de mar por medio de técnicas electroquímicas, de

corriente directa como polarización lineal y de corriente alterna como la técnica de espectroscopía de impedancia electroquímica. A partir de estos resultados obtenidos en este estudio, se podrá describir el mecanismo de corrosión y efecto en la actividad sulfato reductora.

8.3.1. Voltamperometría cíclica

Para estudiar las propiedades de oxidación y reducción de la interfase acero al carbono/agua de mar, se realizó un estudio voltamperométrico. Los experimentos realizados se llevaron a cabo bajo condiciones anaerobias, debido a que en los sistemas de inyección en plataforma se elimina el oxígeno disuelto, el cual es un agente oxidante que acelera el proceso de corrosión; además de que en el proceso de reducción de sulfato es necesaria la ausencia de oxígeno.

Se realizó un barrido de potencial, iniciando a partir del potencial de corrosión (E_{corr}) de -0.55V vs ECS (electrodo de referencia de calomel saturado) en diferentes direcciones, tanto anódica como catódica (Fig. 8.5). En la figura 8.5 A, se muestra el voltamperograma indicando el barrido de potencial en dirección negativa, en esta imagen se puede observar que a valores de potencial más negativos de -1.4V , hay un cambio en el valor de la corriente, debido al proceso de reducción de los iones H_3O^+ y H_2O a H_2 . Al invertir el barrido de potencial, se observa el proceso de oxidación del acero en potenciales cercanos a -0.25V , por un incremento abrupto en la corriente. Los valores de corriente alcanzados sugieren la formación de productos de corrosión conductivos o bien de naturaleza porosa, que pueden desprenderse de la superficie metálica por tener características no adherentes; además este comportamiento es típico cuando se presenta el fenómeno de picadura en la superficie, provocando un aumento en el área superficial del electrodo y por lo tanto una corriente mayor, a un mismo potencial, en el barrido de regreso con respecto al barrido de potencial directo. El comportamiento electroquímico es muy parecido en la Fig. 8.5 B para el barrido de potencial en dirección positiva.

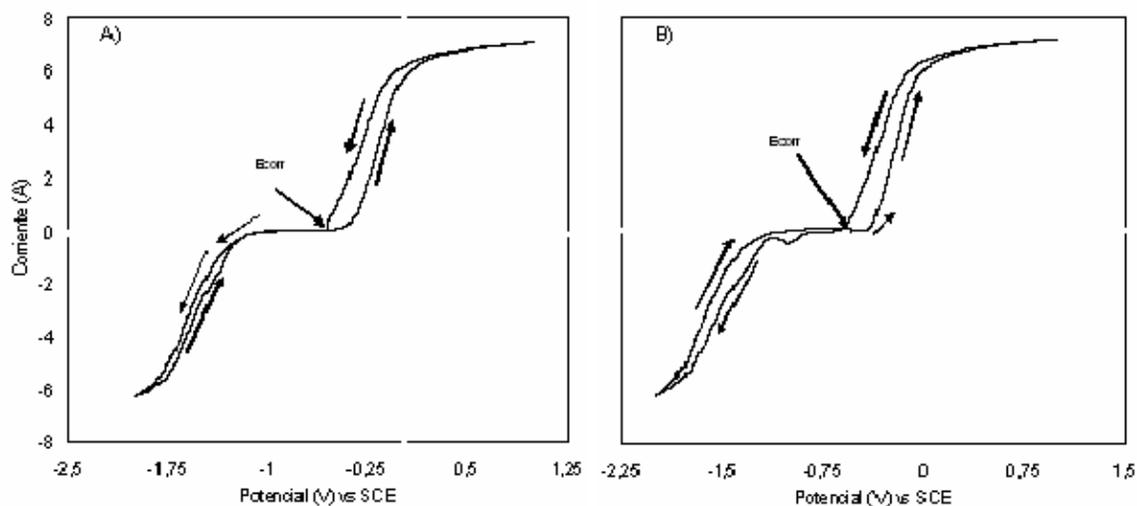


Figura 8.5 Típicos voltamperogramas cíclicos obtenidos para el acero al carbono SAE-1018 en agua de mar en ausencia de oxígeno. A) Polarización cíclica catódica (dirección negativa), B) Polarización cíclica anódica (dirección positiva). El área del electrodo fue de 0.196 cm^2

8.3.2. Evaluación de la velocidad de corrosión por la técnica de voltametría lineal

En la figura 8.6 se muestra los barridos anódico y catódico de potencial lineal obtenido para el acero al carbono en agua de mar, en un intervalo de potencial de -0.55 a -0.95 V vs ECS . Los valores de corriente son mostrados en forma logarítmica, con el fin de determinar la corriente de corrosión y el potencial de corrosión del hierro; además se calcula directamente las pendientes de Tafel β_a y β_c de la reacción anódica y catódica respectivamente. En esta figura se observa que $E_{\text{corr}} = -0.71 \text{ V}$, la intersección de las pendientes β_a y β_c , se observa claramente que no corresponde al valor de E_{corr} , esto es debido a que en la reacción catódica se encuentra limitada por difusión de la especie reaccionante, en este caso es por el H^+ , ya que el experimento se llevó a cabo en condiciones anaerobias. Por tal razón las corrientes de corrosión serán evaluadas con la Ec. 2.16 (ver la sección 2.3.2.1).

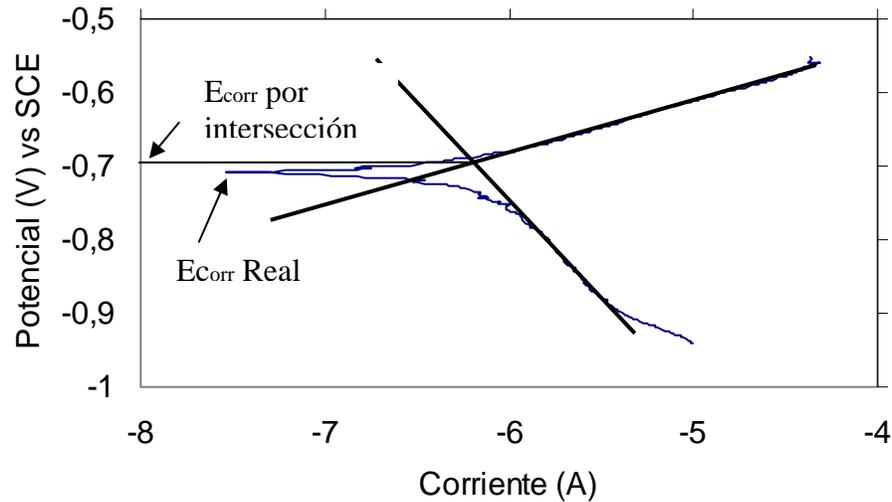


Figura 8.6. Voltametría lineal de acero al carbono en agua marina en ausencia de oxígeno.

La resistencia a la polarización es el inverso de la pendiente obtenida a partir de graficar la corriente vs potencial (E) en $\pm 20\text{mV}$ a partir del E_{corr} . En la Fig. 8.7 se muestra el valor de la pendiente que es igual a 3×10^{-5} , este valor corresponde a un valor de resistencia a la polarización de 33,333 ohms (Ω)

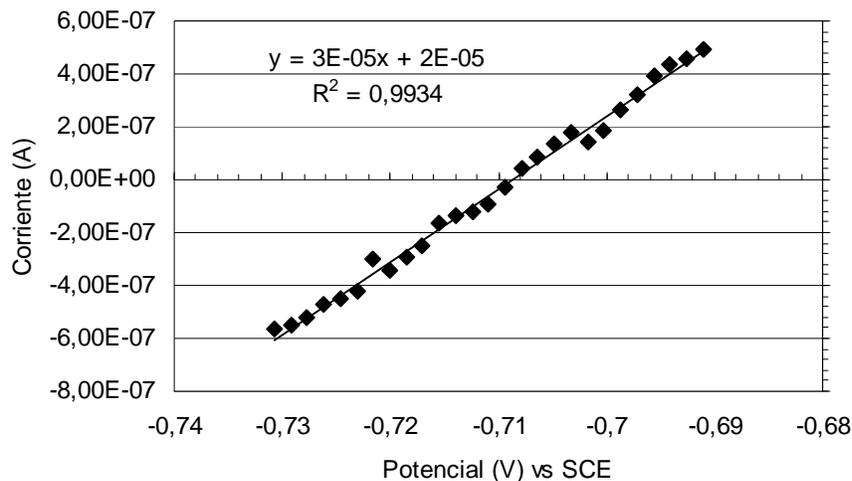


Figura 8.7. Cálculo de la Rp del acero al carbono SAE-1018 en agua marina en ausencia de oxígeno.

Debido a que la contribución catódica es pobre en los sistemas de agua de mar en ausencia de oxígeno, sólo es necesario evaluar la pendiente de Tafel anódica (β_a).

En La Fig. 8.8, se muestra las curvas de polarización anódicas obtenidas en agua de mar rotando el electrodo a diferentes revoluciones por minuto, utilizando disco rotatorio con el fin de determinar si la velocidad de corrosión está controlada por difusión de especies.

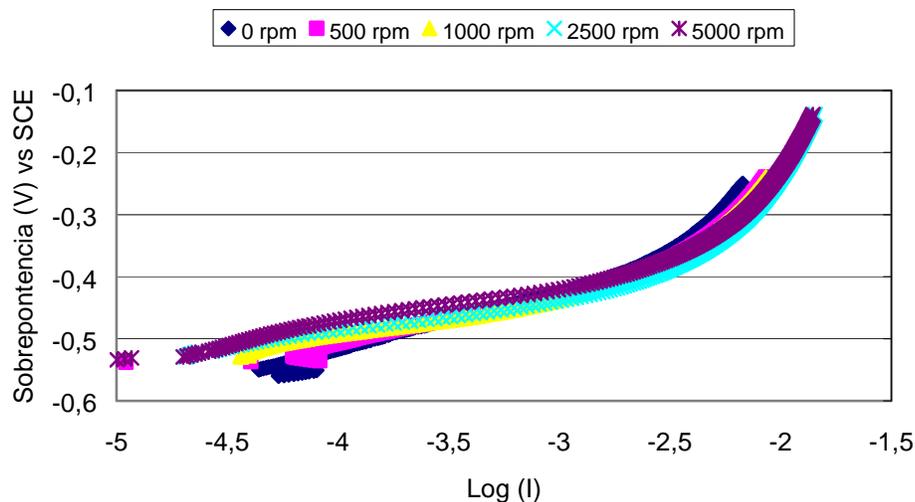


Figura 8.8. Voltametrías lineales de acero al carbono en agua de mar a diferentes revoluciones por minuto

En la Fig. 8.8, se puede observar que el comportamiento de la curva de polarización lineal, no se ve afectada al someter el electrodo a diferentes velocidades de rotación, observándose que a sobrepotenciales mayores a 0.2 V, el incremento de la corriente es mínima. Esto quiere decir que se llega a un estado estacionario que no depende de la difusión de las especies de la solución a la interfase; por lo que se puede proponer que se forman productos de corrosión poco conductores o bien películas porosas. Además, no fue posible determinar las velocidades de corrosión debido a que es difícil medir con exactitud la pendiente de Tafel debido a la pasividad de los productos de corrosión formados en la interfase acero al carbono-agua de mar.

8.3.3. Estudio de la superficie de acero al carbono mediante Espectroscopía de impedancia electroquímica

Se utilizó la técnica de espectroscopía de impedancia electroquímica, para estudiar la evolución de la interfase acero al carbono/agua de mar, esta técnica ha sido utilizada en diversos trabajos para deducir los mecanismos de corrosión en diferentes interfases (Marín y col. 2004; Cabrera y col. 2001), debido a que se puede obtener información de procesos de corrosión sin dañar o modificar la interfase en comparación con la técnica de polarización lineal.

8.3.3.1. Potencial a circuito abierto del acero al carbono SAE-1018 en agua de mar en condiciones anaerobias

Se midió el potencial a circuito abierto en agua de mar en condiciones anaerobias durante un periodo de 10 días. En la Fig. 8.9 se muestra que durante el primer día, hay un aumento de casi 0.2 volts (de -0.79 a -0.63 volts), indicando una oxidación del material muy rápida, principalmente hierro; posteriormente disminuye un poco el potencial hasta un valor de -0.709 V en el tercer día, después de este tiempo hay un aumento hasta -0.64 en el décimo día sugiriendo que el hierro sigue oxidándose, aunque la variación de la velocidad de corrosión es mínima.

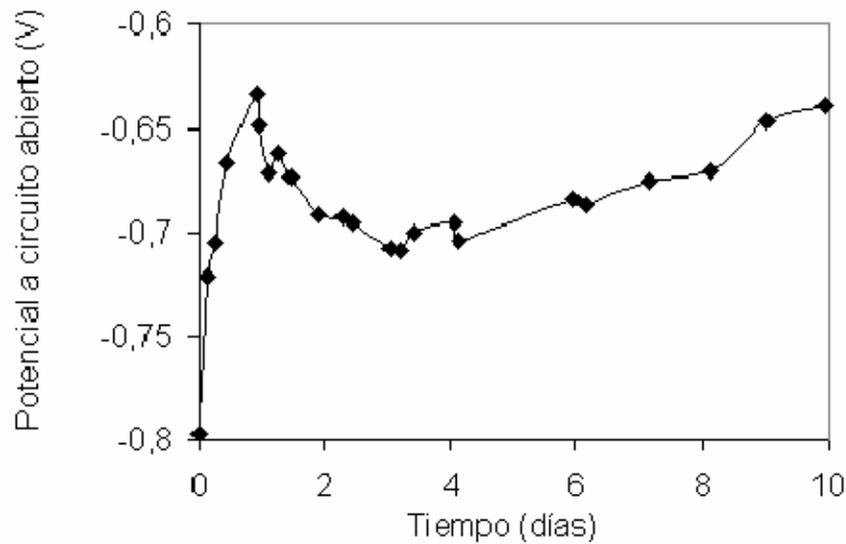


Figura 8.9. Variación del potencial a circuito abierto del acero al carbono SAE- 1018 en agua de mar bajo condiciones anaerobias durante un periodo de 10 días.

8.3.3.2. Caracterización del acero al carbono SAE-1018 en agua de mar bajo condiciones anaerobias, mediante espectroscopia de impedancia electroquímica

Se llevó a cabo un experimento durante 10 días, para obtener espectros de impedancia a diferentes tiempos de inmersión, con el objetivo de estudiar la evolución de la superficie del acero al carbono en agua de mar, bajo condiciones anaerobias. Los espectros de impedancia del experimento total, se dividieron en dos tiempos para su mejor análisis, a tiempos de inmersión cortos (de 0 –0.93 días) y a tiempos de inmersión largo (de 0.93 a 9.9 días).

En la Fig. 8.10, se presentan los espectros de impedancia típicos en la evolución de la superficie de acero al carbono en agua de mar en ausencia de oxígeno, durante el primer día de inmersión. Se puede observar un bucle muy achatado para todos los tiempos de inmersión, en el que los valores de impedancia real en el tiempo inicial son muy grandes (5-6 k Ω), mientras que los valores de la componente imaginaria es menor (\approx 2 k Ω). Estos valores grandes de impedancia, pueden ser obtenidos debido

a la ausencia de oxígeno, y la velocidad de corrosión debe ser muy pequeña en el acero al carbono. Sin embargo, tanto la componente real como la imaginaria disminuyen hasta un orden de 690 ohms en el tiempo de 0.93 días, sugiriendo que los productos de corrosión que se forman, se disuelven en la fase acuosa, estos compuestos pueden ser sulfato de hierro que presentan un color verde oscuro. Este proceso puede provocar que la superficie esté descubierta, y sea susceptible al ataque por H_3O^+ , ocasionando un aumento en la velocidad de corrosión en dos órdenes de magnitud. Este comportamiento coincide con lo discutido en el punto 8.3.3.1 donde los valores de potencial aumentan desde -0.8 hasta -0.64.

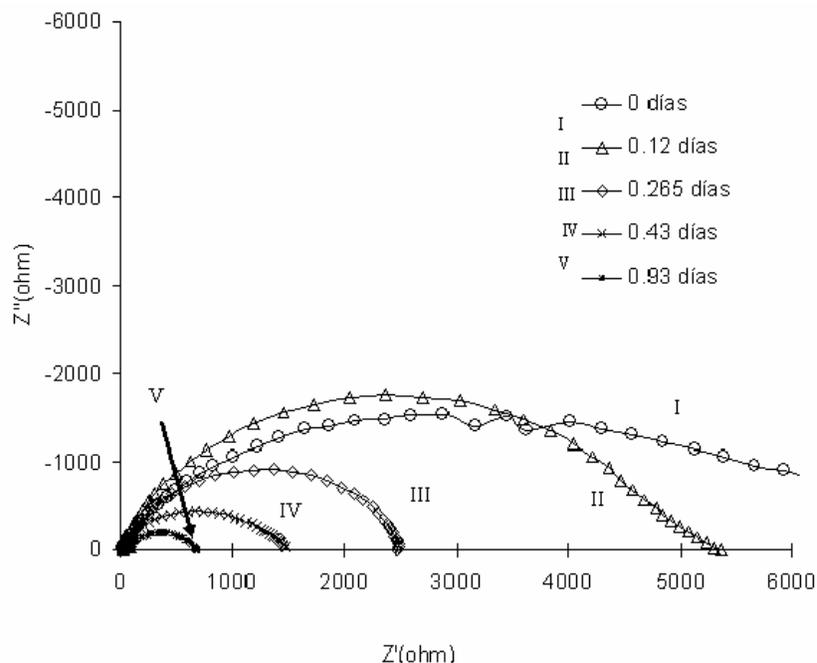


Figura 8.10. Diagramas de Nyquist del acero al carbono SAE-1018 en agua de mar en ausencia de oxígeno, obtenidos en el primer día de inmersión. I) Tiempo inicial, II) 0.12 días, III) 0.265 días, IV) 0.43 días y V) 0.93 días.

Para confirmar la naturaleza poco protectora de las películas de productos de corrosión, se tomaron imágenes de microscopía electrónica de barrido, de las superficies expuestas mostradas en la Fig. 8.12. Las imágenes fueron obtenidas a los tiempos de inmersión de 0.12, 0.43, 0.67, 0.9, 2.9 y 9.93 días de acero al carbono en agua de mar en ausencia de oxígeno.

En esta figura para los primeros tiempo de inmersión (8.12 A y 8.12 B), se observa el inicio del proceso de oxidación del acero, provocando productos de corrosión, los cuales presentan una pobre adherencia, y pueden ser fácilmente removibles. Al incrementar los tiempos de inmersión a 0.67 y 0.9 días (Fig. 8.12 C y 8.12 D), se observa una cobertura total por formación de películas de productos de corrosión. En esta figura es posible evidenciar que los productos de corrosión, son de naturaleza porosa con gran actividad. La transición observada en las figuras 8.12 A a 8.12 D, permiten corroborar la disminución de los valores de impedancia en los diagramas de impedancia mostrados en la figura 8.10. Para conocer la composición química de las películas formadas, se realizó un análisis de EDAX superficial; estos resultados indican las proporciones atómicas, de los elemento presentes en la capa de productos de corrosión formados sobre el acero al carbono SAE-1018. En la Fig. 8.13, se puede observar que en la capa de productos de corrosión sobre la superficie, son más ricas en Fe, O y Cl, debido a la proporción atómica de estos elementos. Estos elementos disminuyen o aumentan conforme el tiempo de inmersión es mayor, esto podría estar asociado a la disolución de los productos de corrosión.

En la figura 8.11, se muestran los diagramas de impedancia para tiempos de inmersión mayores a 0.9 días. En esta figura, se observa un incremento en las magnitudes de la impedancia hasta valores de 10 k Ω (componente real), sugiriendo el incremento de la capa de los productos de corrosión sobre la superficie metálica con características no conductoras. Además, a partir del día 3, se observa que se define un bucle en altas frecuencias, como se puede observar en la Fig. 8.11 B), conforme pasa el tiempo este bucle se define mejor (Fig. 8.11 C), y se puede concluir que la naturaleza de los productos formados sobre la superficie, están modificando su naturaleza o bien que la película está creciendo.

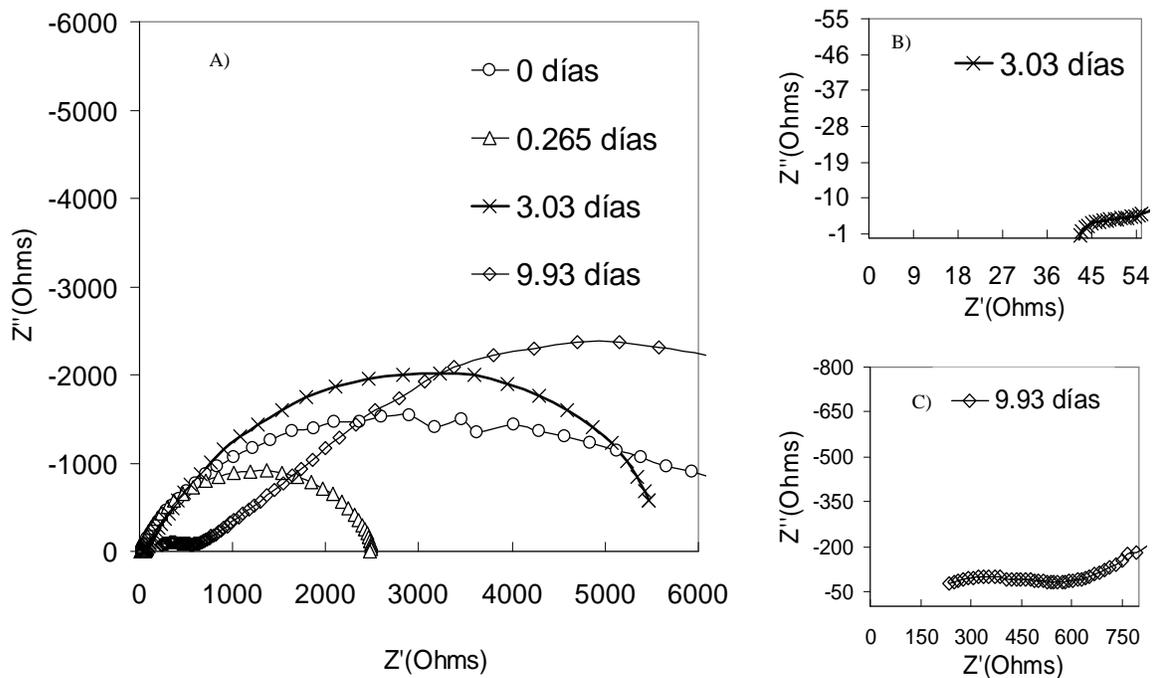


Figura. 8.11. Diagramas de Nyquist obtenidos para la superficie de acero al carbono del día 1 al 10 de tiempo de inmersión en agua mar bajo condiciones anaerobias: (A) del tiempo inicial al día 9.93. (B) Acercamiento de los valores de alta frecuencia para el día 3.03 y (C) Acercamiento de los valores de alta frecuencia para el día 9.93.

Cabe señalar, que las magnitudes de impedancia son muy altas, con respecto a otros estudios que se han llevado a cabo en agua de mar (Barchiche y col., 2004); este resultado se debe a que en el trabajo aquí presentado, se realizó bajo condiciones sin oxígeno, teniendo sólo al H_3O^+ y el H_2O como únicos agentes oxidantes, siendo el agua el compuesto más abundante, y más difícil de reducir, es por esta razón que el medio tiene un bajo poder oxidante.

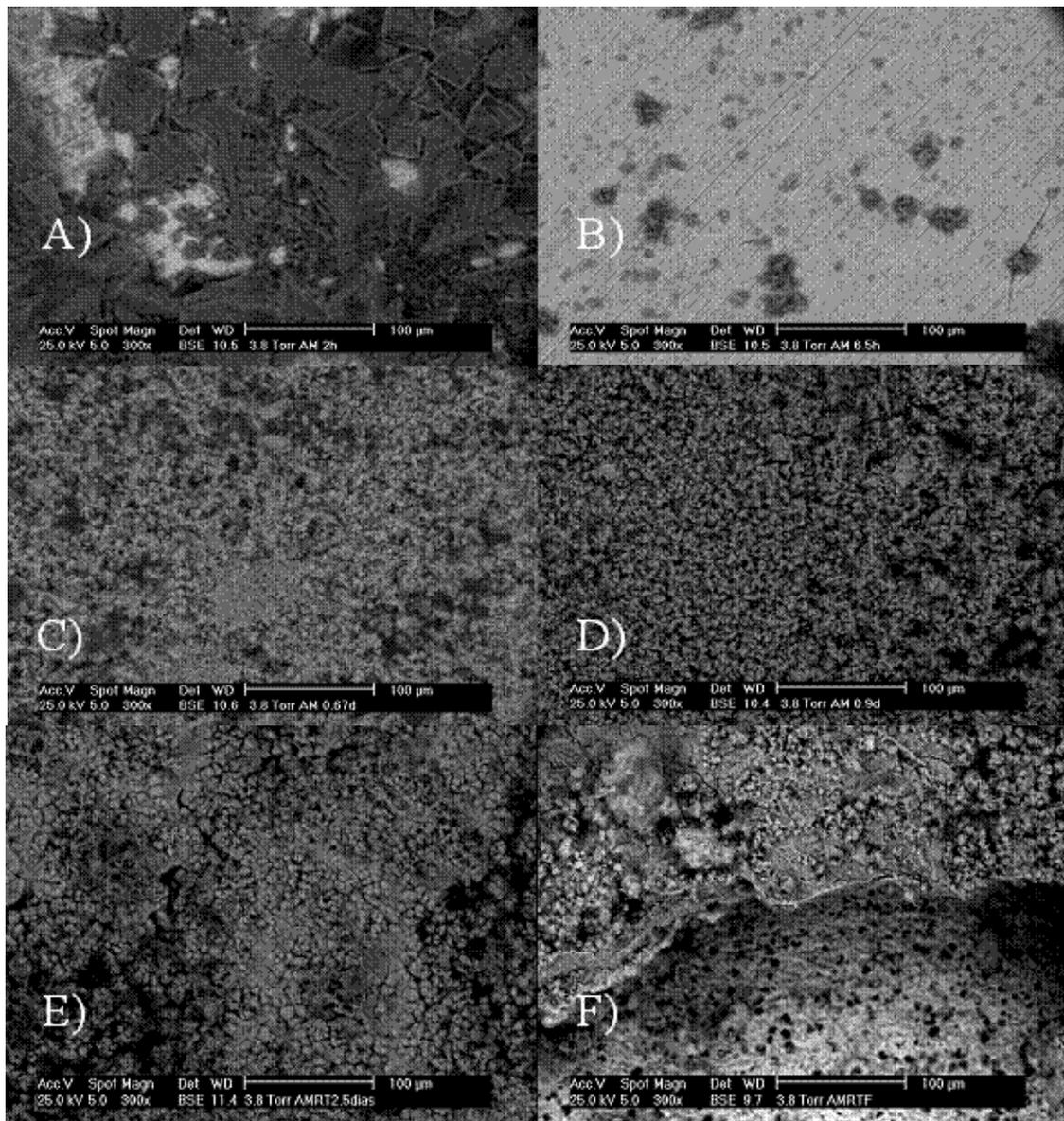


Figura 8.12 Fotografías de microscopía electrónica del acero al carbono en agua de mar bajo condiciones anaerobias a diferentes tiempos de inmersión. A) 0.12 días, B) 0.43 días, C) 0.67 días, D) 0.9 días, E) 2.9 días y F) 9.93 días.

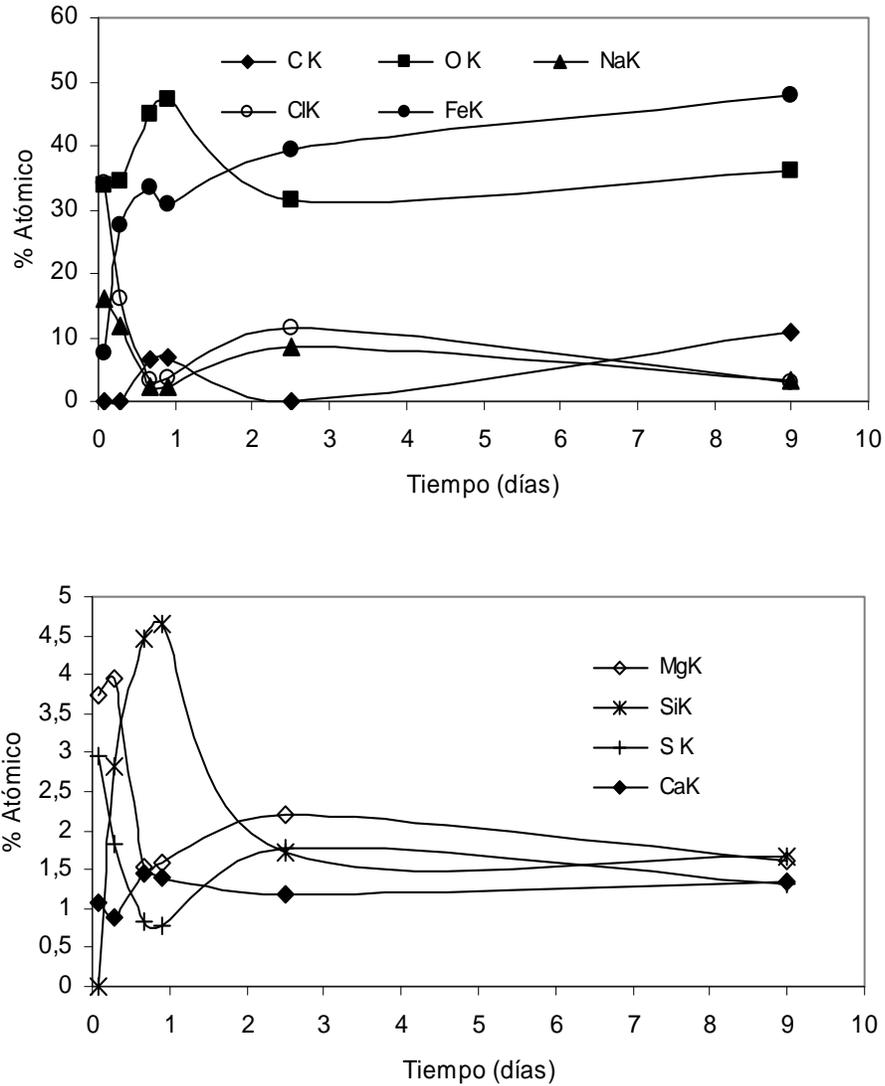


Figura 8.13. Composición semicuantitativa atómica de los productos de corrosión formados sobre la superficie de acero al carbono SAE-1018 en agua de mar bajo condiciones anaerobias.

En la Fig. 8.14 se muestran los diagramas de Bode, A) ángulo de fase y B) magnitud de impedancia, obtenidos para el acero al carbono en agua de mar durante 10 días de inmersión. En estos diagramas se observan patrones característicos, debidos a la modificación química de los productos de corrosión del acero en el medio acuoso. Para los tiempos de 0 y 0.265 días se observan comportamientos muy similares, en los cuales la formación de un ángulo máximo cercano a 70° es evidente. La

formación de este máximo abarca al menos 4 décadas de frecuencia, la cual se puede asociar con dos constantes de tiempo que se encuentran traslapadas. Al incrementar el tiempo de inmersión se observa una modificación importante, por un desplazamiento a bajas frecuencias del comportamiento capacitivo antes mencionado. Cabe mencionar que el ancho de campana para las figuras 8.14 III y 8.14 IV se ven más distorsionados.

Las constantes de tiempo evidenciadas en el gráfico de ángulo vs frecuencia, se puede identificar en los diagramas de módulo vs frecuencia, por un cambio en la pendiente de frecuencias intermedias a bajas. En estas gráficas también es posible constatar las modificaciones y la conductividad del electrolito durante la inmersión del acero debido a las modificaciones en el módulo a altas frecuencias.

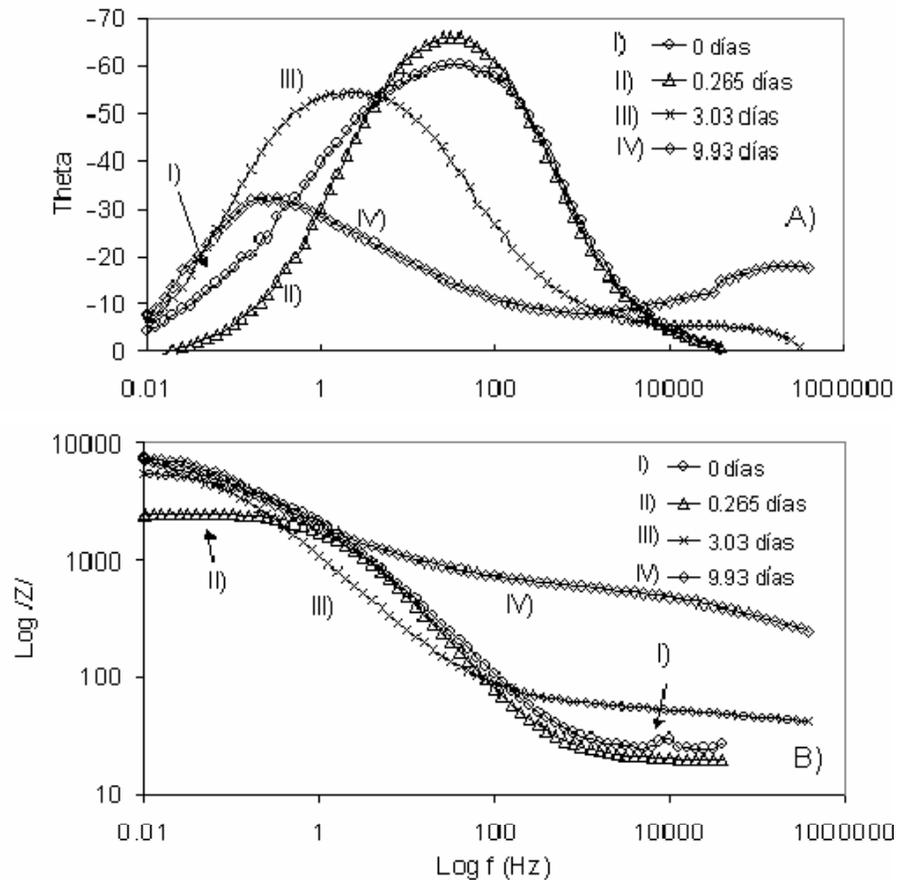


Fig. 8.14. Diagramas de Bode para el acero al carbono SAE-1018 en agua de mar bajo condiciones anaerobias durante un tiempo de inmersión de 10 días. A) Diagrama del ángulo de fase y B) Diagrama de impedancia.

Por este comportamiento, es evidente que existe una evolución de los productos de corrosión en naturaleza y en composición, tal como evidenció Barchiche y col. (2004), proponiendo la formación de incrustaciones de CaCO_3 y Mg(OH)_2 , en agua de mar sintética.

Debido a la presencia de tres constantes de tiempo en el diagrama de impedancia, se sugiere que existen tres fenómenos simultáneos en el proceso de corrosión del acero al carbono en el agua de mar. De esta manera se propone el circuito equivalente (Fig. 8.15) para describir el fenómeno de corrosión del acero al carbono SAE-1018.

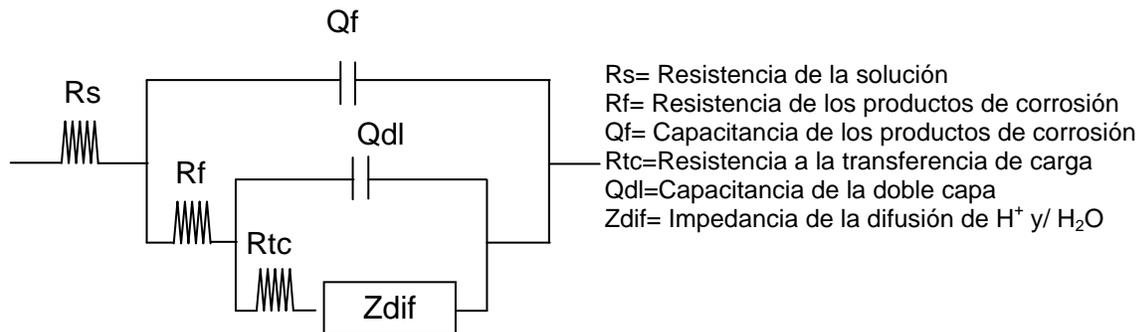


Figura.8.15. Circuito equivalente propuesto para estudiar los fenómenos en la interfase de acero al carbono SAE-1018 en agua de mar

Este circuito se utilizó el software comercial Boukamp para simular los diagramas de impedancia experimentales y obtener los parámetros de resistencia y capacitancias de dicho circuito. En la Fig 8.16 se observa los valores obtenidos en el modelo propuesto.

En la Fig. 8.16 B), se observa que en el primer día la resistencia de los productos de corrosión (R_f) disminuye, esto puede ser, como se propuso anteriormente que se forman sales de sulfato, solubles en el agua de mar y la superficie queda desprotegida y sea posible la reducción del H_3O^+ y/o H_2O . Otra posibilidad es que se formen productos de corrosión conductores como la magnetita y que no sean adherentes, tal como menciona Bousselmi y col. (1999). Posteriormente la resistencia de los productos de corrosión que se forman sobre el acero al carbono aumenta después del día 2, y los valores de capacitancia disminuye por debajo de $0.1 \mu F$ (Fig. 8.16 A), esto comprueba que existe la evolución de los productos formados, siendo de naturaleza dieléctrica, y considerando lo reportado por Barchiche y col. (2004) y Bousselmi y col. (1999), estos productos podrían ser $CaCO_3$ y $Mg(OH)_2$.

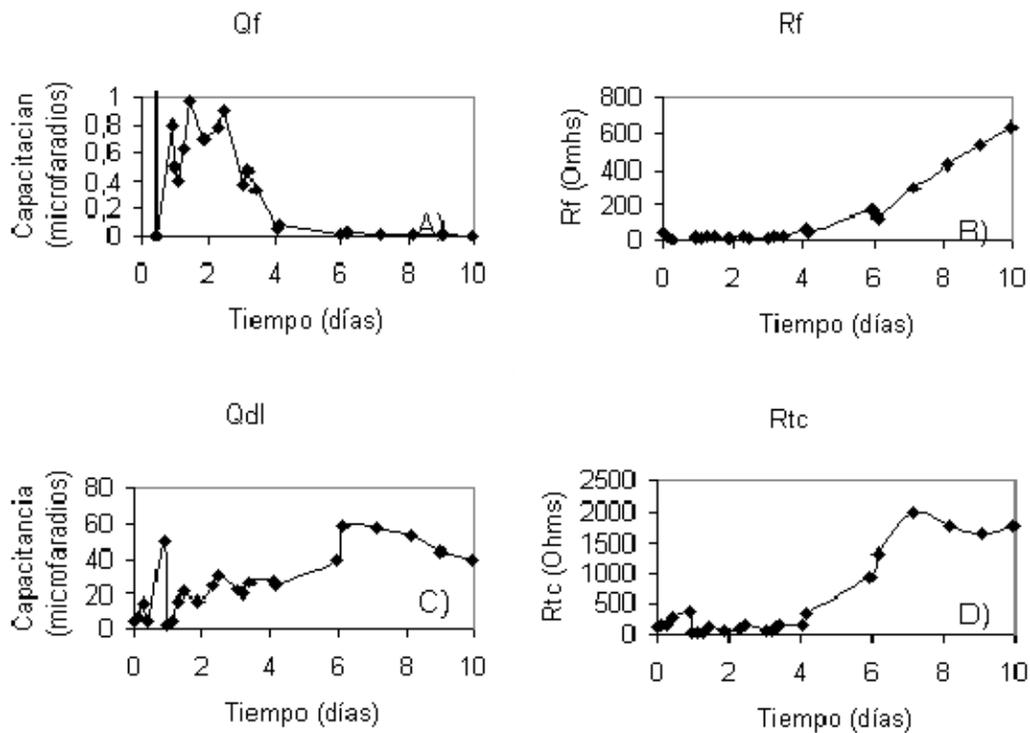


Figura 8.16. Valores del capacitancia (μF) y Resistencia (Ω) de la interfase acero al carbono/agua de mar en ausencia de oxígeno. A) Capacitancia de los productos de corrosión, B) Resistencia de los productos de corrosión, C) Capacitancia del cargado de la doble capa, D) Resistencia de la transferencia de carga.

Los valores obtenidos para la superficie descubierta por la incrustación (abajo de ésta), tanto para la capacitancia de la doble capa (Cdl) como para la resistencia de transferencia de carga (Rtc), aumentan en las magnitudes, que van de 5 a 60 μF y casi 0 a 2000 Ω 's respectivamente, tal como se muestran en las figuras 8.16 C) y D) respectivamente. Los valores de la capacitancia, como los de la resistencia de transferencia carga aumentaron hasta el día 7, posteriormente los valores se mantienen casi constantes. Este comportamiento sugiere que se forma una capa de óxido de hierro e inmediatamente después se forman posibles productos de incrustación, estos productos pueden tener características resistivas o bien que es una película porosa y está creciendo a través del tiempo. Esto corroborado por los altos valores de capacitancia y resistencia, esta última explicación es más

consistente debido a que la superficie metálica se sigue oxidando tal como se discutió en el punto 8.3.2.1.

Con lo que respecta a los valores de impedancia de difusión, mediante el análisis de los tiempos de relajación a valores de baja frecuencia (12 Hz). Al inicio del tiempo de inmersión, se observa que los tiempos de relajación son valores grandes (Fig. 8.17), y conforme aumenta el tiempo de inmersión, los tiempos de relajación disminuyen. Esto quiere decir que conforme aumenta el tiempo de inmersión, el tiempo de relajación disminuye, y por tanto la difusión del ión H^+ es de mayor magnitud. Esto es debido principalmente, a que existe condiciones anaerobias en el agua de mar, los únicos posible agentes oxidantes son el H_3O^+ y el H_2O ; sin embargo la concentración de H_3O^+ , es muy baja (al rededor de 1×10^{-7}), y el agente reductor es el agua, el cual es muy difícil de reducir (se necesitaría aplicar por debajo de -1.5 Volts para reducirla). Otra razón es la posibilidad de que en la capa que se forma, el tamaño de los poros son pequeños, provocando el aumento de la resistencia a la difusión de las especies antes mencionadas.

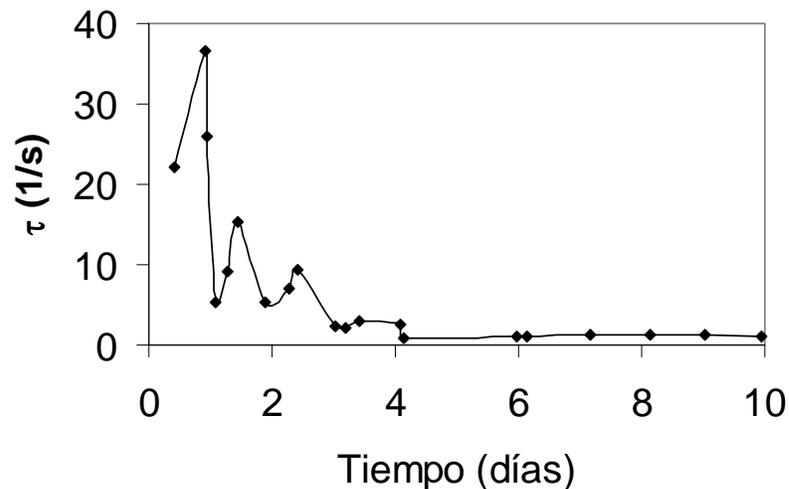


Figura 8.17 Tiempo de relajación constante a través del tiempo de inmersión en la interfase acero al carbono/agua de mar

8.3.3.3. Potencial a circuito abierto del acero al carbono en agua de mar bajo condiciones anaerobias, con una concentración de HS^- de 1×10^{-4} M

Como se encontró en el experimento descrito en el punto 8.2.2, es muy probable tener actividad sulfato reductora litoautótrofa bajo condiciones muy pobres de fuente de energía orgánica y/o nutrientes; por lo que la producción del ión HS^- es factible, aunque se encontraría en concentraciones muy bajas; así como la actividad en ambiente marino sería muy lenta. Por esta razón, se decidió realizar el experimento que a continuación se describe, simulando el efecto que tiene el sulfuro producto de las BSR, a muy bajas concentraciones sobre la superficie del acero al carbono SAE-1018. La concentración que se eligió fue de 1×10^{-4} M.

En la Fig. 8.18, se muestra la evaluación del potencial a circuito abierto del acero al carbono SAE-1018, bajo condiciones anaerobias en presencia de sulfuro a una concentración de 1×10^{-4} M. Es evidente que existe una modificación total de la superficie en presencia de sulfuro, por ejemplo se tiene que el potencial inicial es de -0.52 volts y hasta el primer día predomina una reacción anódica, presumiblemente la reducción del HS^- , posteriormente se mantiene en un valor aproximado de -0.69 volts, con una leve oxidación del hierro conforme pasa el tiempo.

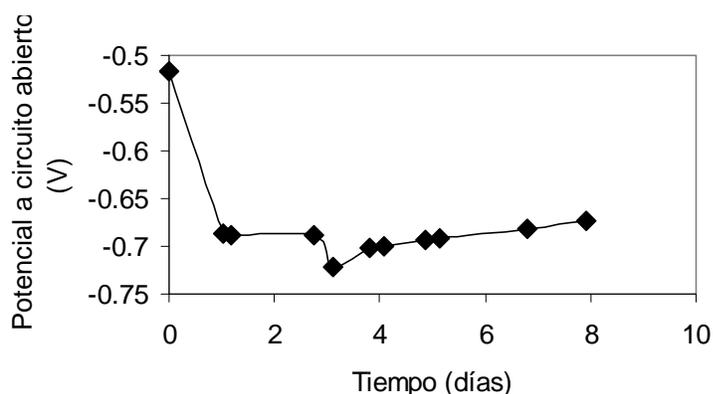


Figura 8.18. Potencial a circuito abierto del acero al carbono SAE-1018 en agua de mar con una concentración del ión bisulfuro de 1×10^{-4} M

8.3.3.4. Caracterización del acero al carbono SAE-1018 en agua de mar bajo condiciones anaerobias con presencia de bisulfuro (1×10^{-4} M), mediante espectroscopía de impedancia electroquímica

No existen estudios del efecto del sulfuro en acero al carbono SAE-1018 en agua de mar bajo condiciones anaerobias, no obstante existe estudios del efecto de aguas amargas sobre el acero al carbón SAE-1018 utilizando técnicas electroquímicas, como los realizados por Cabrera y col. (2002); en los cuales la concentración de sulfuro son más altas y la naturaleza del medio es totalmente diferente. No obstante, reportan que el sulfuro juega un papel importante en el proceso de corrosión y en la disolución del hierro debido a la formación de películas de FeS no adherentes a la superficie, provocando la pérdida del hierro al medio acuoso.

En la Fig. 8.19 se muestra los espectros de impedancia del acero al carbono en agua de mar con una concentración de 1×10^{-4} M de sulfuro, donde se observa que las magnitudes de impedancia disminuyen con respecto al experimento realizado con agua de mar (10 Kohms, ver Fig. 8.11) al tiempo de inmersión de 7.92 días.

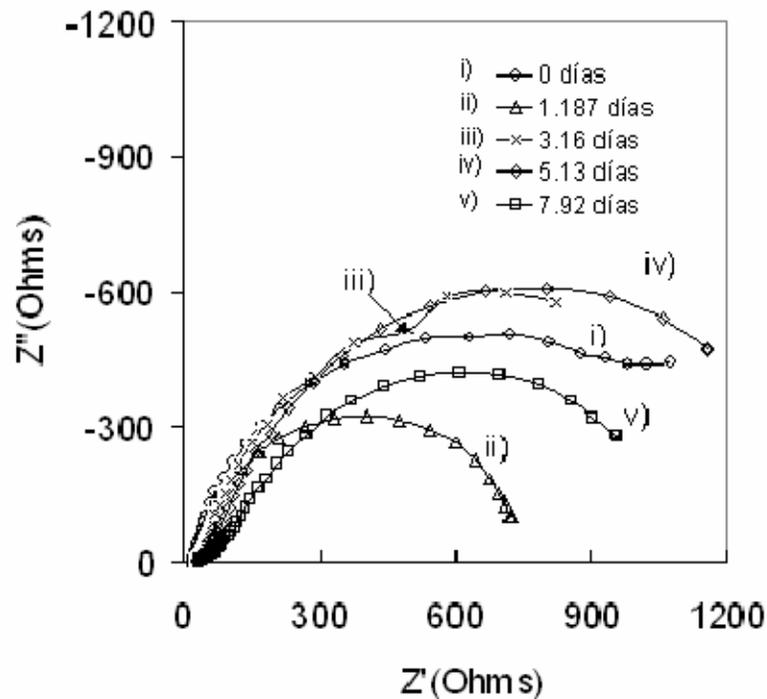


Figura 8.19. Diagrama de Nyquist de impedancia para la caracterización del acero al carbono en agua de mar con una concentración de sulfuro de 1×10^{-4} M, bajo condiciones anaerobias.

La Fig. 8.19, muestra los diagramas de Nyquist obtenidos para el acero al carbono SAE-1018 en agua de mar con una concentración de HS^- de 1×10^{-4} , a diferentes tiempos de inmersión durante un período de 8 días. En la figura anterior sólo se muestran algunos diagramas representativos del comportamiento durante el tiempo total del experimento. En esta figura se muestra que las magnitudes de impedancia real e imaginaria son casi del mismo valor en los puntos de baja frecuencia, lo que indica que la contribución resistiva de la película es igual a la contribución capacitiva. En el primer día se observa una caída en la magnitud de la componente real de impedancia, a un valor de 750 Ohms, posteriormente en el día 5 aumenta hasta un valor de 1500 Ohms, y disminuye hasta el día 7.92 a una magnitud aproximada de 1200 Ohms. La caída de la impedancia del primer día es debido a posibles formaciones de sales que se disuelven en el medio, posteriormente se forman productos de corrosión, presumiblemente sulfuros de hierro.

Con lo que respecta a los diagramas de Bode (Fig 8.20 A), se observa un desplazamiento de los puntos máximos de magnitud del valor del ángulo de fase, a regiones de bajas frecuencias; no obstante, no se observa un cambio en la forma de los espectros y se mantienen las constantes de tiempo, lo que indica que la naturaleza de los productos de corrosión no cambian con respecto al tiempo, lo único que podría cambiar es la porosidad de la película o bien el grosor. Los valores del ángulo de fase para el tiempo 9.72 tienen un valor máximo de 48° , lo que puede confirmar que a partir de este tiempo se está formando una película porosa o bien una película con características no adhesivas.

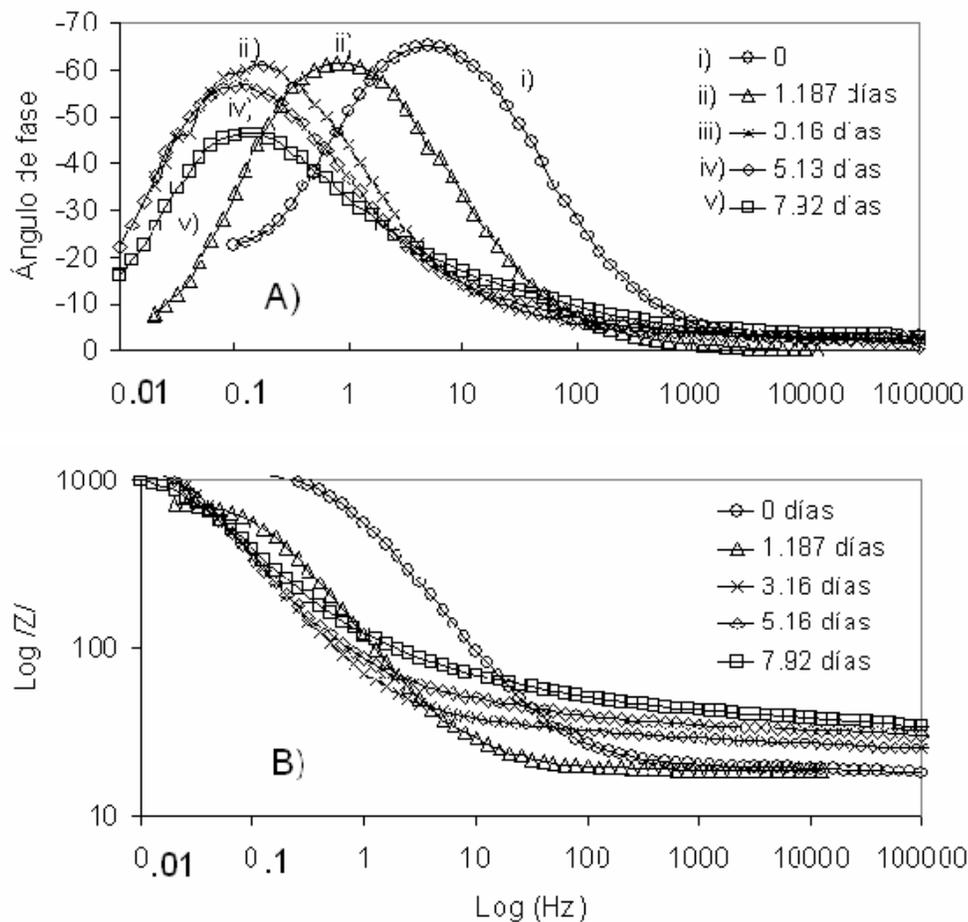


Fig. 8.20. Diagramas de Bode durante un tiempo de inmersión de 8 días obtenidos para el acero al carbono en agua de mar en ausencia de oxígeno con una concentración 1×10^{-4} M de HS^- .

Para corroborar la discusión anterior, se muestra en la Fig. 8.21, los valores obtenidos al ajustar los diagramas experimentales al circuito propuesto anteriormente, donde se observa un cambio en el comportamiento con respecto a lo obtenido en agua de mar sin bisulfuro; por los resultados obtenidos suponemos que la transferencia de carga se da en altas frecuencias, a medianas frecuencias es posible la difusión de la especie bisulfuro y a bajas frecuencias se observa la resistencia a la difusión de H_3O^+ . Por lo que se puede observar que en la figura 8.21 B, los valores de resistencia son muy bajos y entonces se puede suponer la formación de productos de corrosión de sulfuros de hierro que son conductores, o bien que el grosor de la capa es muy delgada.

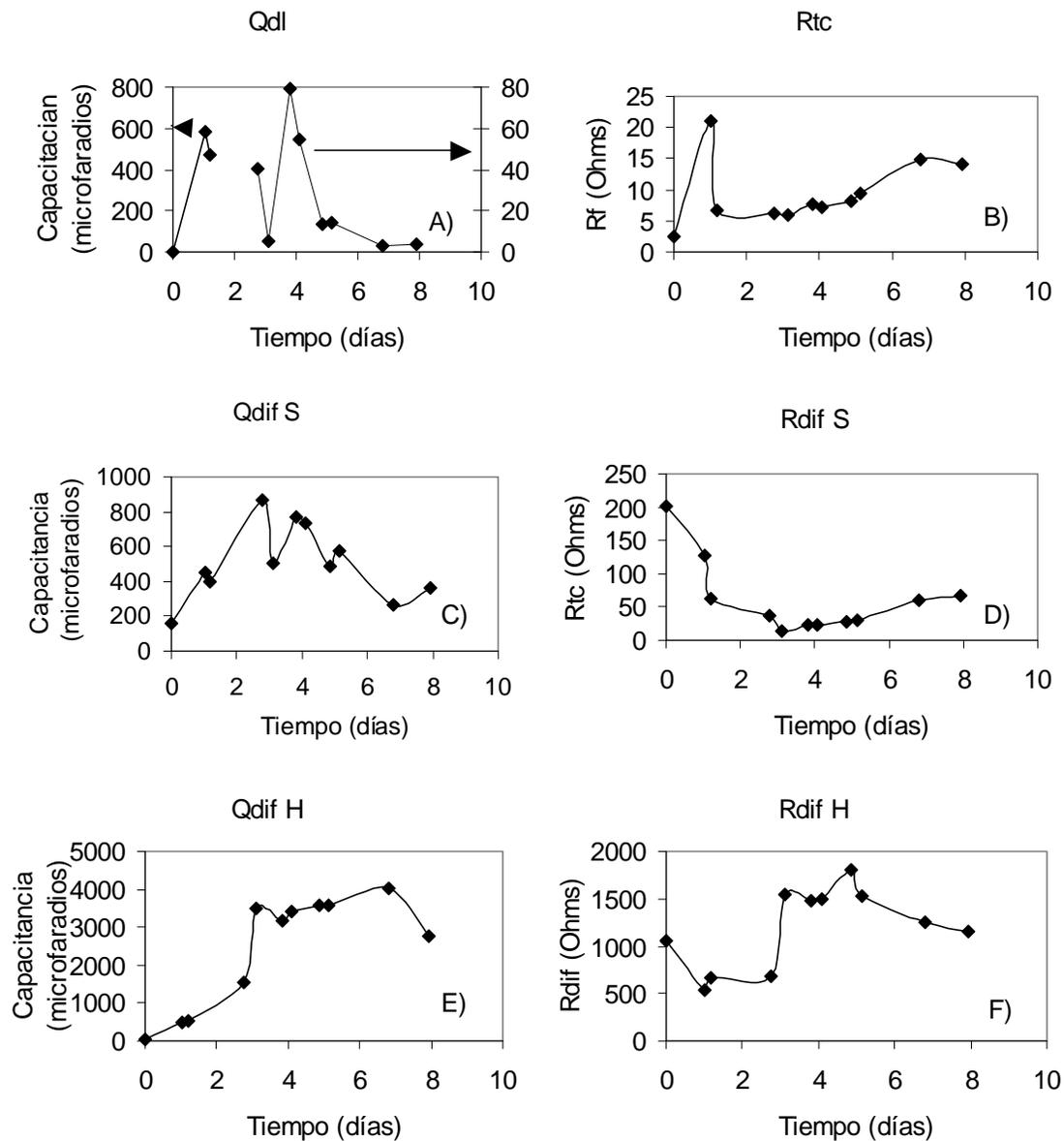


Figura. 8.21. Valores del capacitancia (μF) y Resistencia (Ω) de la interfase acero al carbono/agua de mar, en ausencia de oxígeno. A) Capacitancia de los productos de corrosión, B) Resistencia de los productos de corrosión, C) Capacitancia de la difusión del ión bisulfuro, D) resistencia de la difusión del ión bisulfuro, E) y F) Impedancia de la difusión del H^+ .

En la Fig. 8.21 D, se observa que en un principio la resistencia de la película, es alta y conforme pasa el tiempo a 3 días la resistencia es muy baja, esto apoya la teoría de que las capas de productos de corrosión, va disminuyendo conforme pasa el tiempo; posteriormente de los tres días, se observa el aumento de la resistencia, esto es debido probablemente a que el ión HS^- se consumió en su totalidad, debido a que se formó FeS , el cual resultó ser no adherente y se perdió en el medio, esto se comprobó visualmente, al ver los productos de corrosión en el medio (precipitado de color negro).

En el inciso F de la figura 8.21, la resistencia a la difusión de H^+ , se observa que en el tercer día aumenta, coincidiendo con el consumo total del ión HS^- , y que después de este tiempo crece la capa de producto sobre la superficie de acero al carbono.

Para corroborar lo anterior se realizó el análisis mediante los tiempos de relajación a mediana frecuencia para el caso del sulfuro, y a baja frecuencia para el caso del hidrógeno. En la figura 8.22, se puede observar un aumento considerable del tiempo de relajación en los primeros 3 días, posteriormente disminuye, esto confirma que se trata del efecto del ión sulfuro, donde en un principio hay mayor concentración de éste y como se ha reportado, inmediatamente precipita con el ión hierro; disminuyendo por lo tanto la difusión de este ión sulfuro debido a que la capa de productos de corrosión o incrustación se pierde fácilmente de la pared del acero al carbono. Después del día 3, se detecta una disminución del tiempo de relajación a través del tiempo de inmersión, sugiriendo que la difusión del ión sulfuro aumenta debido a que este mismo disminuye en concentración y se empieza a formar los productos de corrosión.

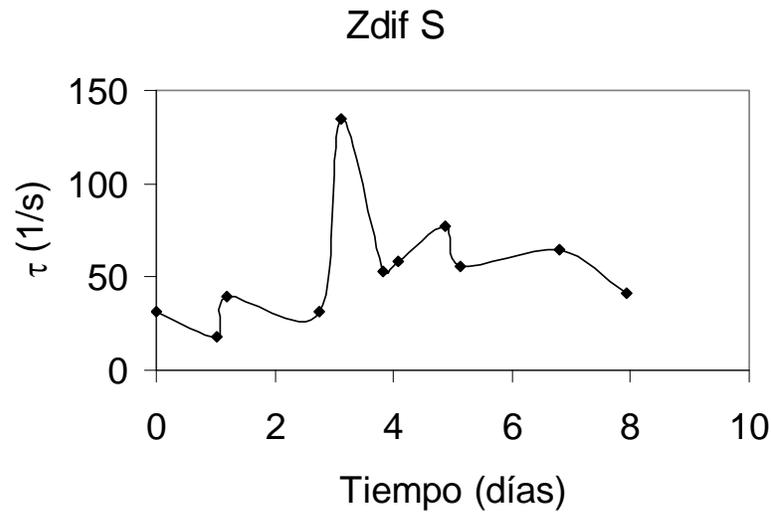


Figura 8.22 Tiempo de relajación a medianas frecuencias, a través del tiempo de inmersión del electrodo de acero al carbono en agua de mar con una concentración de 1×10^{-4} M de bisulfuro.

Con lo que respecta al estudio de la difusión del H^+ , en la Fig. 8.23, se puede observar que a mayor tiempo de inmersión la difusión del ión H^+ aumenta considerablemente a partir del día 1, debido a que los tiempo de relajación disminuyen con respecto al tiempo. Esto también confirma el aumento en la disminución de la difusión del ión sulfuro, debido a que empieza aumentar la capa de productos de incrustación y corrosión; no obstante, los valores de resistencia son muchos menores que en agua de mar sola, y esto es debido a que en este sistema, hay mayor concentración de un agente secuestrador del hierro que es el sulfuro.

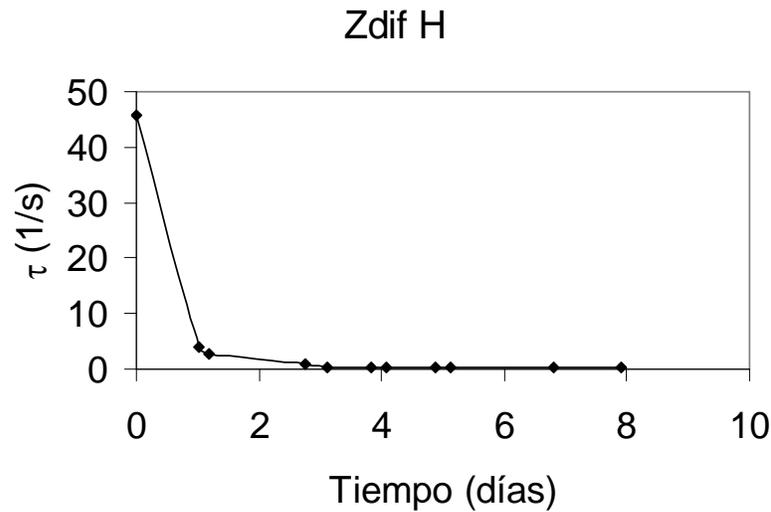


Figura 8.23. Tiempo de relajación a bajas frecuencias a través del tiempo de inmersión del electrodo de acero al carbono en agua de mar con una concentración de $1 \times 10^{-4} \text{M}$ de bisulfuro, para el estudio de la difusión del ión H^+ .

8.4. Mecanismo de biocorrosión del acero al carbono SAE-1018, en presencia de agua de mar bajo condiciones anaerobias

En este trabajo se realizaron pruebas microbiológicas de bacterias sulfato reductoras bajo diferentes condiciones, se obtuvo que la presencia del metal estimula la actividad sulfato reductora debido a la producción de H^0 y/o H_2 y microelementos disponibles, tal como se discutió en el punto 8.2.2. En este punto se encontró que en agua de mar, se tiene actividad sulfato reductora muy lenta pero hay presencia de microorganismos, durante este tiempo de exposición la interacción del medio con acero al carbono es muy significativa, según se discutió en el punto 8.3.3.2. Ante tales resultados se propone el siguiente mecanismo de formación de depósitos y productos de corrosión, en presencia de las BSR.

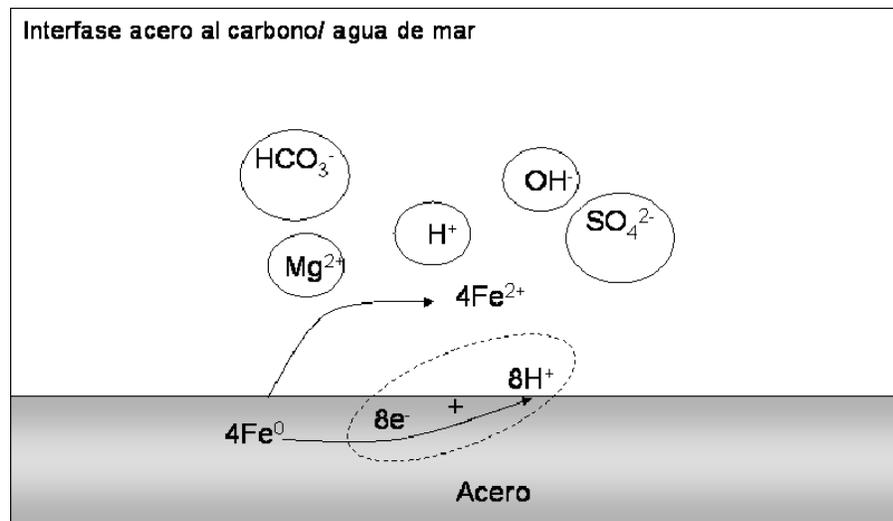


Figura 8.24. Especies químicas presentes en la interfase de acero al carbono/agua de mar

En el esquema de la figura 8.24 se muestran las especies químicas presentes en la interfase acero al carbono/agua de mar; el proceso de formación de productos de corrosión y depósitos, es el proceso dominante de la parte química, en donde los resultados de impedancia arrojaron las siguientes reacciones bajo condiciones anaerobias.

Sitio catódico



Sitio anódica

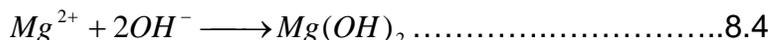


La reacción del sitio catódico, produce varios efectos, el primero es que el valor de pH interfacial se ve favorecido hacia una condición alcalina, debido a que solo quedan las especies OH^- ; esta condición ambiental favorece la formación de las siguientes especies como se muestran en las siguientes reacciones, propuestas por Hodgkiess y Lim (1993) y Barchiche y col. (2004).

Aragonita



Hidróxido de magnesio



La formación de estos compuestos depende directamente de la evolución de H^0 y/o H_2 . En los experimentos en las botellas serológicas para estudiar la actividad de las BSR, se tiene un volumen de 30 mL y un valor de pH de 7.8 (1.6×10^{-5} mM de H^+), una concentración de HCO_3^- de 2.73 mM, de Mg^{2+} de 55 mM, Ca^{2+} de 0.5 mM y SO_4^{2-} de 15.9 mM. Por lo tanto en este medio se puede formar 0.5 mM de $CaCO_3$, el hidróxido de magnesio dependerá de la rapidez con la que evolucione el H_2 , pues la formación de éste, dependerá de que se genere un ambiente alcalino en la interfase. En la Fig. 8.13 se observa que a lo largo del experimento, hay presencia de Ca, Mg, S, Fe y O en la película de productos de corrosión de forma constante a partir del día 2. Esto quiere decir que la rapidez con la que evoluciona el H_2 permanece constante a través de tiempo.

Con lo que respecta al hierro producido en el sitio anódico, este también puede reaccionar con el ión OH^- , así como también reacciona con los iones sulfatos para formar diferentes especies. Rafait y col. (2003) y Bousselmi y col. (1999), mencionan que bajo condiciones similares forman hidroxisulfatos de hierro (II) y (III) y oxihidróxidos de hierro. Estos compuestos forman capas adherentes, lo cual concuerda con lo resultados que se obtuvieron en este trabajo para agua de mar bajo condiciones anaerobias, también son porosas y crecen a una velocidad lenta, de acuerdo a los estudios de espectroscopia de impedancia electroquímica.

Para formar todas estas especies, la reacción limitante es la evolución de H_2 , este compuesto una vez que se formaron las capas de productos de corrosión, tienen que

difundir a través de esta capa, según muestran los resultados arrojados por las pruebas de espectroscopía de impedancia electroquímica. Por tal razón la actividad sulfato reductora, también se verá limitada en su actividad por esta reacción, debido a que su única fuente de energía es el H₂; no obstante la producción de sulfuros tiene efecto negativo sobre la capa de productos formados sobre la superficie, por muy pequeña que ésta sea ($1 \times 10^{-4} \text{M}$), como se mostró en el punto 8.3.3.4.



Conclusiones

Casa abierta al tiempo

9. CONCLUSIONES

En este trabajo se demostró, que en los sistemas de inyección de agua de mar para la extracción secundaria del petróleo en ductos de acero al carbono SAE-1018, no existen las condiciones para tener actividad acidogénica debido a la ausencia de compuestos orgánicos y nutrientes.

La presencia de metal, promueve la actividad sulfato reductora debido a la evolución del H^0 y/o H_2 en los sitios catódicos del metal y a la contribución de otros metales que disuelven en el proceso de corrosión, tales como Mn, P, S, Ni, Mo, Cr, que actúan como micronutrientes para las BSR.

Esta actividad es muy lenta, debido a que la reacción anódica depende solamente de la reducción del H^+ , y la difusión de éste entre las capas de productos de corrosión y depósitos que se forman sobre la superficie del metal.

Por estudios de espectroscopia de impedancia electroquímica y análisis de EDAX, se obtuvo que los depósitos y productos de corrosión en la parte inicial del contacto acero al carbono agua de mar pueden ser aragonita, magnetita y hidroxisulfatos de hierro (II) y (III) y óxidos de hierro principalmente. Los cuáles tienen características pasivas; además la capa que se forma es porosa y adherente, debido a la alta resistencia a la difusión del H^+ , como mostraron los estudios de espectroscopia de impedancia electroquímica.

La presencia de concentraciones muy bajas de sulfuro, tiene un efecto negativo en la formación de productos de incrustación que se forman debido a la composición del agua de mar, debido a la formación de FeS que se pierde en la solución.

La presencia de bacterias sulfato reductoras en agua de mar que es utilizada para inyección para la extracción secundaria del petróleo, puede causar daños significativos en la estructura del metal debido a su metabolismo litoautótrofo.



Bibliografía
Casa abierta al tiempo

10. BIBLIOGRAFÍA

- Amann R.I., Stromley J., Devereux R., Key R. y Stahl A. 1992. Molecular and microscopic identification of sulphate-reducing bacteria in multispecies biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*. **58**(2): 614-623
- American Standard Test Method (ASTM). G59-78. 1984. Standard practice for conducting potentiodynamic polarization resistance measurements. ASTM International. pp. 221-224
- American Standard Test Method (ASTM). D 665-02. 2002. Standard Test Method for rust-prevention characteristics of inhibited mineral oil in the presence of water. ASTM international.
- Angell P., Lou J.S. y White D.C. 1995. Microbially sustained pitting corrosion of 304 stainless steel in anaerobic seawater. *Corrosion Science*. **37**(7):1085-1096.
- Angell P. y Urbanic K. 2000. Sulphate-reducing bacterial activity as a parameter to predict localized corrosion of stainless alloys. *Corrosion Science*. **42**:897-912
- Axelsen S. B. y Rogne T. 1998. Do micro-organisms "eat" metal?. Microbiologically influenced corrosion of industrial material, Contract No. BRRT-CT98-5084.
Web: http://www.corr-institute.se/english/Web_DT/files/mechanisms
- Barchiche C., Deslouis C., Gil O., Refait P. y Tribollet B. 2004. Characterisation of calcareous deposits by electrochemical methods: role of sulphates, calcium concentration and temperature. *Electrochimica Acta*. **49**:2833-2839.
- Beveridge Terry J. 1997. Interaction between biofilms and the environment. *FEMS Microbiology Reviews*. **20** (3-4):291-303.
- Beech I.B. y Cheung W.S. 1995. Interactions of exopolymers produced by sulphate-reducing bacteria with metal ions. *International Biodeterioration and Biodegradation*. **35**:59-72
- Beyenal Haluk y Lewwandowski Z. 2002. Internal and external mass transfer in biofilms grown at various flow velocities. *Biotechnol.* **18**:55-61
- Brierley J.A. y Brierley C.L. 2001. Present and future commercial applications of biohydrometallurgy. *Hydrometallurgy*. **59**:233-239.

- Bousselmi L., Fiaud C., Tribollet B. y Triki E. 1999. Impedance spectroscopic study of a steel electrode in condition of scaling and corrosion interphase model. *Electrochimica Acta*. **44**:4357-4363.
- Cord-Ruwisch R. 1985. A quick method for determination of dissolved and precipitated sulfides in cultures of sulfate-reducing bacteria. *Journal of Microbiological Methods*. **4**:33-36
- Cabrera S. R., Miranda H. M., Sosa E., Oropeza T. y González I. 2001. Electrochemical characterization of the different surface states formed in the corrosion of carbon steel in alkaline sour medium. *Corrosion Science*. **43**: 2305-2324.
- Cabrera S. R., Sosa E., Oropeza M.T. y Gonzalez I. 2002. Electrochemical study on carbon steel corrosion process in alkaline sour media. *Electrochimica Acta*. **47**:2149-2158.
- Characklis W. G. y Widerer P. A. 1989. Structure and function of biofilms. Editorial Wiley
- Chen X. y Stewart P.S. 2002. Role of electrostatic interaction in cohesion of bacterial biofilms. *Appl Microbiol Biotechnol*. **59**:718-720
- Costerton J. W., Lewandowski Z., Caldwell D. E., Korber D. R. y Lappin-Scott H. M. Microbial biofilms. 1995. *Annu. Rev. Microbiol*. **49**:711-745
- Costerton J. W., Cheng K.J., Geesey G.G., Ladd T. I., Nickel J. C., Dasgupta M., y Marrie T. J. 1987. Bacterial biofilms in nature and disease. *Annual reviews Inc*. **41**:435-464
- Donlan Rodney M. 2002. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerging Infectious Diseases*. **8**(9): 881-890
- Dilling W. y Cypionka. 1990. Aerobic respiration in sulfate-reducing bacteria. *FEMS Microbiology Letters*. **71**:123-128.
- Elvers Karen T. y Lappin-Scott Hilary M. 2000. Biofilms and Biofouling. *Encyclopedia of Microbiology*. **1**:478-485
- Gibson G.R. 1990. Physiology and ecology of sulphate-reducing bacteria. *Journal of Applied Bacteriology*. **69**:769-797.

- Hao O. J., Chen J. M. H., Huang L. y Buglass R. L. 1996. Sulfate-Reducing Bacteria. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. **26**(1):155-187
- Hodgkiess T. y Lim C.W. 1993. Aspects of galvanic corrosion behaviour of a range of material in seawater. *Corrosion Science*. 35(1-4): 269-283
- Holt J. G., Krieg N. R., Sneath P. H. A., Staley J. T. y Williams S. T. 1994. Bergey' Manual of determinative bacteriology. 9th edition. Williams and Wilkins.
- Iverson W. P. 2001. Research on the mechanism of anaerobic corrosion. *International Biodeterioration & Biodegradation*. **47**:63-70.
- Jayaraman A., Cheng E.T., Earthman J.C. y Wood T. K. 1997. Importance of biofilm formation for corrosion inhibition of SAE-1018 steel by axenic aerobic biofilms. *Journal of industrial Microbiology & Biotechnology*. **18**:396-401.
- Jeffrey R. y Melchers R.E. Mayo 2002. Bacteriological influence in the development of iron sulphide species in marine immersion environments. *Corrosion Management*. Pp. 3-11.
- Little B. J., Wagner P.A., Characklis W. G. 1995. Biofilms. pp. 635-670
- Little B., Wagner P. y Mansfeld F. 1992. Test methods for microbiologically influenced corrosion (MIC) in marine environments. *Material Science Forum*. Volumes 111-112. *Electrochemical Methods in Corrosion Research IV*. Ed. Olof Forsén. Trans Tech publication.
- Kang S., Agarwal G. Hoek E.M.V. y Deshuesses M. A. 2003. Initial Adhesion of microorganisms to polymeric membranes. *Chemical and Environment Engineering*, University of California, Riverside
- Kühr von W. y Vlugt vander. 1934. The graphitization of cast iron as an electrochemical process in anaerobic soils. *Water*. 147-165
- Marín C. J., Cabrera S. R., Pech C.M.A. y González I. 2004. Characterisation of different allotropic forms of calcium carbonate scales on carbon steel by electrochemical impedance spectroscopy. *Journal of Applied Electrochemistry*. **34**: 337-343
- Matthysse A. G. 1992. Adhesion, bacterial. *Encyclopedia of Microbiology*, Volume 1. Academic Press Inc. pp:29-36
- Miller G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. **31**:426-428.

- Mollica A. 1992. Biofilm and corrosion on active-passive alloys in seawater. *International Biodeterioration and Biodegradation*. **29**: 213-229.
- Mulvey M. A. y Hultgren S. 2000. Adhesión Bacterial. *Encyclopedia of Microbiology*, Volume 1. Academic Press Inc. pp:42-51
- Pagano M.A. y Lalvani S.B. 1994. Corrosion of mild steel subjected to alternating voltages in seawater. *Corrosion Science*. **36**(1):127-140.
- Ravot G., Olliver B., Magot M., Patel B. K. C., Crolet J.-L., Fardeau M.-L., y García J.-L. 1995. Thiosulfate Reduction, an Important Physiological Feature Shared by Members of the Order *Thermotogales*. *Applied and environmental microbiology*. **61**(5):2053-2055.
- Refait ph., Memet J.B., Bon C., Sabot R. y Génin J.M. 2003. Formation of the Fe(II)-Fe(III) hydroxysulphate green rust during marine corrosion steel. *Corrosion Science*. **45**:833-845.
- Romero J..M, Chavez A., Martínez I. y Amaya M.2002. Localised biological corrosion of X52 steel exposed within sea water pipelines. *BritisCorrosion Journal* . **32**(7):1-5h
- Santegoeds C. M., Ferdelman T. G., Muyzer G. y de Beer D. 1998. Structural and Functional Dynamics of Sulfate-Reducing Populations in Bacterial Biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*. **64** (10):3731-3739.
- Strickland J.D.H. y Parsons T.R. 1972. A practical handbook of seawater analysis. Boletín 167, Segunda Edición. Fisheries Research Board of Canada Ottawa. pp. 11-34
- Sutherland W. 2001. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework, *Microbiology* **147**:3-9.
- Uhlig Herbert. H. 1985. Corrosion and corrosion control. Wiley-Interscience. 3ra edición.
- Videla H. A y Characklis W. G. 1992. Biofouling and microbially influenced corrosion. *International Biodeterioration & Biodegradation*. **29**:195-212.
- Zinkevich V., Bogdarina I., Kang H., Hill M.A.W., Tapper R. y Beech I.B. 1996. Charaterisation of exopolymers produced by different isolates of marine sulphate-reducing bacteria. *International Biodeterioration*. **37** (3-4):163-172



11. ANEXOS

ANEXO 1

Determinación de la actividad de hidrógeno

VI.5. CONVERSION OF pH TO HYDROGEN ION ACTIVITY

TABLE V. Conversion of pH to hydrogen ion activity from the relation $a_H = 10^{-pH}$. For a pH of $Q + v$ (where v is the decimal part) find N from the Table in terms of v and substitute in the equation:

$$a_H = N \times 10^{-Q}$$

v	N	v	N	v	N
0.00	1.000	0.34	0.457	0.67	0.214
0.01	0.977	0.35	0.447	0.68	0.209
0.02	0.955	0.36	0.437	0.69	0.204
0.03	0.933	0.37	0.427	0.70	0.200
0.04	0.912	0.38	0.417	0.71	0.195
0.05	0.891	0.39	0.407	0.72	0.191
0.06	0.871	0.40	0.398	0.73	0.186
0.07	0.851	0.41	0.389	0.74	0.182
0.08	0.832	0.42	0.380	0.75	0.178
0.09	0.813	0.43	0.372	0.76	0.174
0.10	0.794	0.44	0.363	0.77	0.170
0.11	0.776	0.45	0.355	0.78	0.166
0.12	0.759	0.46	0.347	0.79	0.162
0.13	0.741	0.47	0.339	0.80	0.158
0.14	0.725	0.48	0.331	0.81	0.155
0.15	0.709	0.49	0.324	0.82	0.151
0.16	0.692	0.50	0.316	0.83	0.148
0.17	0.676	0.51	0.309	0.84	0.144
0.18	0.661	0.52	0.302	0.85	0.141
0.19	0.646	0.53	0.295	0.86	0.138
0.20	0.631	0.54	0.288	0.87	0.135
0.21	0.617	0.55	0.282	0.88	0.132
0.22	0.603	0.56	0.275	0.89	0.129
0.23	0.589	0.57	0.269	0.90	0.126
0.24	0.575	0.58	0.263	0.91	0.123
0.25	0.562	0.59	0.257	0.92	0.120
0.26	0.549	0.60	0.251	0.93	0.117
0.27	0.537	0.61	0.245	0.94	0.115
0.28	0.525	0.62	0.240	0.95	0.112
0.29	0.513	0.63	0.234	0.96	0.110
0.30	0.501	0.64	0.229	0.97	0.107
0.31	0.490	0.65	0.224	0.98	0.105
0.32	0.479	0.66	0.219	0.99	0.102
0.33	0.468				

ANEXO 2

Factor para determinación de la alcalinidad total

VI.6. FACTORS FOR TOTAL ALKALINITY MEASUREMENT

TABLE VI. Factors for total alkalinity measurement. Factor f in the equation:

Total alkalinity = $2.500 - 1250 a_H/f$
is found as a function of chlorinity or salinity.

pH range	Cl‰ =	2	4	6	8	10	12-18	20
	S‰ =	3.5	7	11	14.5	18	21-33	36
	f	f						
2.8-2.9	0.865	0.800	0.785	0.775	0.770	0.768	0.773	
3.0-3.9	0.845	0.782	0.770	0.760	0.755	0.753	0.758	
4.0	0.890	0.822	0.810	0.800	0.795	0.793	0.798	

ANEXO 3

Conversión de alcalinidad total a alcalinidad por carbonatos

VI.8. CONVERSION OF TOTAL ALKALINITY TO CARBONATE ALKALINITY

TABLE VIII. Conversion of total alkalinity to carbonate alkalinity. Quantity, *A*, milliequivalents per liter, to be subtracted from the total alkalinity to give the carbonate alkalinity in milliequivalents per liter.

Note. Multiply the value in the table by 10^{-2} to get *A*.

$pH_{s(d)}$	$^{\circ}C = 0$	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
	<i>Cl</i> = 15%								<i>S</i> = 27%							
7.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
7.4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2
7.5	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2
7.6	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
7.7	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3
7.8	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4
7.9	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4
8.0	3	3	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5
8.1	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6
8.2	5	5	5	5	6	6	6	6	6	7	7	7	7	7	7	8
8.3	6	6	6	7	7	7	7	7	8	8	8	8	8	8	8	9
8.4	7	7	8	8	8	8	8	9	9	9	9	10	10	10	10	11
8.5	8	9	9	9	10	10	10	10	11	11	11	11	12	12	12	13
8.6	10	10	11	11	11	12	12	12	12	13	13	13	14	14	14	14
8.7	12	12	12	13	13	13	14	14	14	14	15	15	16	16	16	16
8.8	15	15	15	15	16	16	17	17	17	17	18	18	18	19	19	19
	<i>Cl</i> = 17%								<i>S</i> = 31%							
7.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
7.4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2
7.5	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
7.6	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3
7.7	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
7.8	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4
7.9	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5
8.0	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6
8.1	5	5	5	5	6	6	6	6	6	7	7	7	7	7	8	8
8.2	6	6	6	6	7	7	7	7	8	8	8	8	8	9	9	9
8.3	7	7	8	8	8	8	8	9	9	9	9	10	10	10	11	11
8.4	8	9	9	9	10	10	10	11	11	11	11	12	12	12	13	13
8.5	10	10	11	11	11	12	12	12	13	13	13	14	14	14	15	15
8.6	12	12	13	13	13	14	14	14	15	15	15	16	16	16	17	17
8.7	14	14	15	15	16	16	16	17	17	17	18	18	18	19	19	19
8.8	17	17	18	18	19	19	19	20	20	20	21	21	21	22	22	23
	<i>Cl</i> = 19%								<i>S</i> = 34%							
7.3	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
7.4	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
7.5	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3
7.6	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
7.7	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4
7.8	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
7.9	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
8.0	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6	6	7	7	7	7	7
8.1	6	6	6	6	7	7	7	7	8	8	8	8	8	8	9	9
8.2	7	7	7	8	8	8	9	9	9	9	9	10	10	10	10	11
8.3	8	9	9	9	10	10	10	10	11	11	11	11	12	12	12	13
8.4	10	10	11	11	11	12	12	12	13	13	13	13	14	14	14	15
8.5	12	12	13	13	13	14	14	14	15	15	15	16	16	16	17	17
8.6	14	14	15	15	16	16	16	17	17	18	18	18	19	19	19	20
8.7	16	16	17	17	18	18	19	19	19	20	20	20	21	21	21	22
8.8	19	20	20	21	21	22	22	22	23	23	24	24	24	25	25	25