

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CIUDAD JUÁREZ
INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS



INFLUENCIA DE LA CEPA RPh9 de *Pseudomonas stutzeri* EN EL
PROCESO DE CORROSIÓN DE UNA ALEACIÓN DE ACERO
INOXIDABLE INMERSO EN MEDIO MARINO

POR

JACOBO ANTONIO RECIO HERNÁNDEZ

TESIS

LICENCIATURA EN QUÍMICA

CD. JUÁREZ, CHIH.

MAYO, 2020.

INFLUENCIA DE LA CEPA RPh9 de *Pseudomonas stutzeri* EN EL PROCESO
DE CORROSIÓN DE UNA ALEACIÓN DE ACERO INOXIDABLE INMERSO EN
MEDIO MARINO

POR

JACOBO ANTONIO RECIO HERNÁNDEZ

TESIS



DRA. MÓNICA GALICIA GARCÍA
DIRECTORA DE INVESTIGACIÓN



DRA. HORTENCIA SILVA JIMÉNEZ
CO-DIRECTORA DE INVESTIGACIÓN



DRA. GWENDOLYNE PERAZA MERCADO
COORDINADORA DEL PROGRAMA



DR. JOSÉ ALBERTO LÓPEZ DÍAZ
JEFE DEL DEPARTAMENTO



M.C.D. SALVADOR DAVID NAVA MARTÍNEZ
DIRECTOR DEL INSTITUTO

MAYO 2020.

AGRADECIMIENTOS

Doy los más grandes agradecimientos a la Dra. Mónica Galicia García por haber sido mi asesora durante la realización de este trabajo, además de esto, quiero agradecerle por la oportunidad que me dio al trabajar con ella en el Laboratorio de Electroquímica y utilizar todos los equipos e instrumentos necesarios para la realización de la tesis. Por las veces que me asesoró durante mi trayectoria en la tesis. También se agradece de forma muy condescendiente a la Dra. Hortencia Silva Jiménez por la donación de la cepa bacteriana que se utilizó en este trabajo, y también por las veces que atendió las dudas respecto al manejo de la bacteria y sus observaciones y comentarios de la tesis. Agradezco enormemente a la Dra. Elsa Ordoñez por la donación de la pieza de acero inoxidable cuyo uso fue el más importante, pues sin esta no se hubiese realizado este trabajo. También aprovecho para agradecerle a la Dra. Roxana Malpica y la Dra. Marisela Aguirre por haberme dado tutorías respecto a la parte microbiológica de esta tesis, asimismo por el acceso a su laboratorio y utilización de equipo y material necesario.

También reconozco el gran apoyo aportado por Julio Salazar y Yamileth Duarte por haberme proporcionado consejos y guías prácticas sobre el manejo y preparación de material microbiológico. Además, estoy muy agradecido con la Dra. Carmen Méndez por haberme asesorado en la redacción de este trabajo, así como las observaciones que hizo durante este gran trayecto. Por supuesto que también quiero agradecer a todos mis amigos y compañeros de licenciatura y posgrado que estuvieron allí conmigo cuando realizaba la tesis, por sus consejos y maneras de continuar con este trabajo, por sus motivaciones, observaciones honestas y comentarios retroalimentativos respecto a este tema interesante pero de forma excepcional te agradezco a ti por leer esto.

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación está dedicado a mi madre *Martha Hernández Quiroz*, por creer en mí durante todo este tiempo que estuve estudiando la Licenciatura en Química, por el gran apoyo emocional que me proporcionó, por haberme forjado en la persona que soy actualmente, y porque ella es la razón motivante por la cual quiero salir adelante y sobresalir en la vida académica y laboral que está por venir; mucho de lo que he logrado se lo debo a mi madre, pero lo que más estoy agradecido y por lo cual es que le dedico este trabajo es por haberme dado la oportunidad de estudiar.

Con mucho cariño y respeto hacia mi madre, *Jacobo Antonio Recio Hernández*.

RESUMEN

La corrosión es el proceso destructivo de un metal por una reacción electroquímica con su entorno. Los aceros inoxidable tienen la capacidad de formar una película adherente, compacta y estable de óxido de cromo (Cr_2O_3), la cual protege el metal ante un ambiente oxidante. Sin embargo, en ambientes marinos, a parte de la corrosión inorgánica, se ha reportado la participación de microorganismos capaces de iniciar o acelerar la corrosión debido a metabolitos corrosivos. Este fenómeno es conocido como “corrosión inducida microbiológicamente” (MIC). *Pseudomonas stutzeri* es una bacteria ampliamente distribuida, Gram negativa no esporulada, aeróbica y móvil. El objetivo del presente estudio fue caracterizar electroquímicamente la formación de una biopelícula de *P. stutzeri* RPh9 inmersa en medio marino Zobell sobre acero inoxidable para establecer su influencia en el proceso de pasivación y corrosión. En un sistema abiótico y biótico se realizaron mediciones del potencial de circuito abierto (OCP) y de impedancia electroquímica (EIS), con la finalidad de monitorear tanto el potencial del metal respecto al medio, así como la resistencia que presenta a la corrosión. Se observó que en el sistema abiótico la resistencia a la corrosión varía repetidamente, esto fue atribuido a la actividad electrolítica del medio sobre el metal. No obstante, en el sistema biótico se observó que la resistencia a la corrosión incrementó conforme el tiempo de inmersión fue mayor, por lo que se deduce que la superficie metálica fue colonizada por bacterias de la cepa RPh9 de *P. stutzeri*, es decir, se formaron biopelículas.

Palabras clave: biopelícula, acero inoxidable, OCP, *Pseudomonas stutzeri*, resistencia a la corrosión.

ABSTRACT

Corrosion is a destructive process of a metal by an electrochemical reaction with its environment. Stainless steels have the ability to form a stable, compact, adherent film of chromium oxide (Cr_2O_3), which protects the metal against an oxidizing environment. However, in marine environments, apart from inorganic corrosion, the participation of microorganisms capable of initiating or accelerating corrosion due to corrosive metabolites has been reported. This phenomenon is known as "Microbiologically Induced Corrosion" (MIC). *Pseudomonas stutzeri* is a widely distributed, aerobic, mobile, non-sporulated Gram negative bacteria. The objective of this study was to electrochemically characterize the formation of a biofilm of *P. stutzeri* RPh9 immersed in a Zobell marine environment on stainless steel to establish its influence on the passivation and corrosion process. Open Circuit Potential (OCP) and Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) measurements were performed in an abiotic and biotic system, in order to monitor both the potential of the metal with respect to the medium, as well as its resistance to corrosion. It was observed that in the abiotic system the resistance to corrosion varies repeatedly, this was attributed to the electrolytic activity of the medium on the metal. However, in the biotic system it was observed that the resistance to corrosion increased as the immersion time was greater, so it follows that the metal surface was colonized by bacteria of the *P. stutzeri* strain RPh9, that is, they formed biofilms.

Key words: biofilm, corrosion resistance, stainless steel, OCP, RPh9 *Pseudomonas stutzeri*.

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIA.....	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE CUADROS	x
ÍNDICE DE ECUACIONES	x
ABREVIATURAS	xi
INTRODUCCIÓN	1
1. Antecedentes	2
1.1 Corrosión	2
1.1.1 Concepto de corrosión	2
1.1.2 Costos de la corrosión.....	3
1.1.3 Tipos de corrosión.....	4
1.2 Corrosión inducida por microorganismos (MIC) o biocorrosión	4
1.2.1 Participación de microorganismos en la corrosión	5
1.2.2 Tipos de interacción entre el microorganismo y el metal.....	6
1.2.2.1 Biocorrosión activa.....	7
1.2.2.2 Biocorrosión pasiva.....	7
1.3 Biopelículas	9
1.3.1 Concepto de biopelícula.....	9
1.3.2 Composición de las biopelículas	9
1.3.3 Funciones de las sustancias poliméricas extracelulares (EPS) .	10
1.4 Aceros inoxidables.....	12
1.4.1 Historia del acero inoxidable	12
1.4.2 Acero inoxidable.....	13
1.4.3 Pasividad de los aceros inoxidables	14
1.4.4 Tipos de aceros inoxidables según su microestructura.....	17
1.4.4.1 Aceros inoxidables austeníticos.....	18
1.4.4.2 Aceros inoxidables ferríticos	18

1.4.4.3	Aceros inoxidables martensíticos.....	19
1.4.4.4	Aceros inoxidables tipo Dúplex.....	20
1.5	Técnicas electroquímicas para el estudio de MIC	21
1.5.1	Generalidades.....	21
1.5.2	Potencial de circuito abierto (OCP).....	21
1.5.3	Resistencia a la polarización (LPR)	22
1.5.4	Espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS)	24
1.6	Técnicas microscópicas de alta resolución.....	29
1.6.1	Microscopía electrónica de barrido (MEB)	29
1.7	Hipótesis.....	30
1.8	Objetivos.....	30
1.8.1	Objetivo general	30
1.8.2	Objetivos específicos	30
2.	Materiales y métodos	31
2.1	Preparación del medio marino Zobell	31
2.2	Preparación de electrodos de trabajo	31
2.3	Montaje de la celda electroquímica	31
2.4	Evaluaciones electroquímicas	32
2.4.1	Evaluación del potencial de circuito abierto (OCP)	32
2.4.2	Espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS)	32
2.5	Análisis de los datos electroquímicos	33
3.	Resultados y discusión.....	34
3.1	Evaluaciones electroquímicas	34
3.1.1	Monitoreo del potencial de circuito abierto (OCP).....	34
3.1.2	Evaluación por espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS) 35	
3.1.2.1	EIS-Nyquist sistema control.....	35
3.1.2.2	EIS-Nyquist sistema con <i>Pseudomonas stutzeri</i> RPh9.....	37
3.1.2.3	EIS-Bode sistema control y con <i>Pseudomonas stutzeri</i> RPh9	38
3.1.3	Circuitos eléctricos equivalentes (CEE) por ajuste de EIS.....	40
3.1.3.1	CEE del sistema control.....	41
3.1.3.2	CEE del sistema con <i>Pseudomonas stutzeri</i> RPh9	44

4. Conclusiones.....	50
5. Recomendaciones.....	51
6. Plan de difusión.....	52
LITERATURA CITADA.....	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reacciones electroquímicas de corrosión de la disolución de zinc.....	2
Figura 2. Componentes fundamentales en el proceso de corrosión.	3
Figura 3. Tipos de corrosión.....	4
Figura 4. Esquema de biocorrosión metálica con una biopelícula.	5
Figura 5. <i>Staphylococcus aureus</i> en acero inoxidable observada en MEB.....	9
Figura 6. Producción mundial de acero inoxidable en el periodo 2005-2014....	12
Figura 7. Regeneración de la película de óxido de cromo.	13
Figura 8. Proceso de pasivación del acero inoxidable.	15
Figura 9. Diagrama de fases para los tipos de aceros.	17
Figura 10. Micrografía de un acero inoxidable austenítico.	18
Figura 11. Estructura ferrítica de un acero inoxidable.	19
Figura 12. Micrografía de estructura martensítica de un acero inoxidable.	20
Figura 13. Micrografía de un acero inoxidable Dúplex.	21
Figura 14. Gráfico de polarización lineal	23
Figura 15. Diagrama de Nyquist.....	26
Figura 16. Diagramas de Bode	27
Figura 17. Espectro de impedancia de un proceso difusivo de Warburg	28
Figura 18. Esquema de un microscopio electrónico de barrido.....	30
Figura 19. OCP sistema control y <i>P. stutzeri</i> Rph9 a 21 días de inmersión.....	34
Figura 20. Espectros de Nyquist del sistema control.	35
Figura 21. Relación R_{ct} vs tiempo para el sistema control.	36
Figura 22. Espectros de Nyquist para el sistema con <i>P. stutzeri</i> RPh9	37
Figura 23. Relación R_{ct} contra tiempo para el sistema con <i>P. stutzeri</i> RPh9.....	38
Figura 24. Diagrama de Bode de módulo de impedancia ambos sistemas.	39
Figura 25. Diagrama de Bode del ángulo de fase para ambos sistemas.....	40
Figura 26. CEE para el sistema control.....	42
Figura 27. CEE para el sistema con <i>P. stutzeri</i> RPh9.....	45
Figura 28. Mecanismo de formación de una biopelícula bacteriana.	48
Figura 29. Perspectiva lateral de una biopelícula bacteriana.....	49
Figura 30. Cartel presentado en el congreso de ciencias	52

Figura 31. Constancia del trabajo presentado en el congreso de ciencias 53

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro I. Microorganismos asociados a la corrosión microbiológica.....	6
Cuadro II. Tipos de bacterias que ocasionan biocorrosión activa.	8
Cuadro III. Composición de las biopelículas.	10
Cuadro IV. Funciones de las EPS en las biopelículas bacterianas.....	11
Cuadro V. Elementos de aleación en aceros inoxidable y sus funciones.....	16
Cuadro VI. Parámetros obtenidos del ajuste de CEE del sistema abiótico.	41
Cuadro VII. Parámetros obtenidos del ajuste de CEE del sistema biótico.....	44

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Ecuación de la recta para obtener R_p	22
Ecuación 2. Obtención de la corriente de corrosión i_{corr}	23
Ecuación 3. Constante de Stern y Geary	23
Ecuación 4. Corriente de corrosión a $B=0.026 V$	23
Ecuación 5. Obtención de i_{corr} con pendiente catódica	24
Ecuación 6. Obtención de i_{corr} con pendiente anódica	24
Ecuación 7. Impedancia real e imaginaria	25
Ecuación 8. Módulo de impedancia	26
Ecuación 9. Ángulo de fase	26
Ecuación 10. Cálculo de la frecuencia con la capacitancia	27
Ecuación 11. Ecuación de la densidad óptica	32
Ecuación 12. Reacción anódica	42
Ecuación 13. Reacción catódica	42

ABREVIATURAS

NACE	“National Association of Corrosion Engineers”
EPS	Sustancias poliméricas extracelulares
AND	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
ASM	“American Society for Materials”
BSSA	“British Stainless Steel Association”
FCC	“Face Centered Cubic structure”
AISI	“American Iron and Steel Institute”
SCC	“Stress Corrosion Cracking”
BCC	“Body Centered Cubic structure”
ASTM	“American Society for Testing Materials”
OCP	“Open Circuit Potential”
LPR	“Linear Polarization Resistance”
EIS	“Electrochemical Impedance Spectroscopy”
E	Potencial
E_{corr}	Potencial de corrosion
R_p	Resistencia a la polrización
V_{corr}	Velocidad de corrosion
i_{corr}	Densidad de corriente de corrosión
R_{sol}	Resistencia de la solución
R_{ct}	Resistencia a la transferencia de carga
$Z_{Imaginaria}$	Impedancia imaginaria
Z_{Real}	Impedancia real

C_{edl}	Capacitancia de la doble capa electroquímica
SEM	“Scanning Electron Microscopy”
SEI	“Secondary Electron Image”
BEI	“Backscattered Electron Image”
EDS	“Energy Dispersive Spectroscopy”
UV	Ultravioleta
ECS	Electrodo de calomel saturado
DO	Densidad óptica

INTRODUCCIÓN

La corrosión es un fenómeno electroquímico de deterioro metálico provocado por la reacción entre un metal y su entorno (Langill, 2006). Son demasiados los materiales metálicos que se corroen, especialmente los aceros por su amplio uso. Específicamente, la industria petrolera utiliza aceros al carbono o inoxidable para traslado y almacenamiento de agentes químicos pero éstos no están libres del fenómeno de corrosión ya que en ambientes marinos puede ocurrir “corrosión inducida microbiológicamente” (MIC, por sus siglas en inglés), donde participan microorganismos capaces de iniciar o acelerar la corrosión generando productos metabólicos que actúan como agentes corrosivos afectando el metal. No obstante, este proceso es más evidente cuando aumenta la sinergia de asociación microbiana ya que se forma una “biopelícula” bajo la cual ocurren procesos más severos de daño metálico (Custodio, 2006).

Consecuentemente, la actividad microbiana en aceros ocasiona corrosión localizada y repercute considerablemente en la industria en el ámbito económico debido a que se producen picaduras en el metal, lo que ocasiona fugas o derrames de hidrocarburos, es decir, hay pérdida de producto; asimismo, esto causa daños indirectos como paros de producción por reparación y daños ambientales por contaminación.

A la fecha, ciertos aspectos de la sinergia entre la corrosión inorgánica y MIC en los aceros inoxidable no se han determinado en forma contundente y resultan de vital importancia conocerlos con el fin de establecer diagnósticos, prevenciones y control de este fenómeno. Es por ello que en este trabajo de tesis se caracterizó y monitoreó la formación de biopelícula de una cepa marina sobre acero inoxidable utilizando técnicas electroquímicas, con la finalidad de establecer un mecanismo de formación microbiano de la cepa RPh9 de *Pseudomonas stutzeri* sobre acero inoxidable y establecer su influencia en el proceso de corrosión.

1. Antecedentes

1.1 Corrosión

1.1.1 Concepto de corrosión

La corrosión es el proceso destructivo de un metal por reacción química o electroquímica con su entorno o ambiente (Uhlig & Winston, 2008). Los materiales no metálicos no son incluidos en los fenómenos de corrosión, sino en otro fenómeno denominado “degradación” (Jiménez, 2015). Asimismo, la corrosión es la destrucción lenta y progresiva de un metal promovida por un agente “exterior”; uno de los factores que limitan la durabilidad de metales es el ataque químico o fisicoquímico debido al medio circundante (Fernández, 2009).

La corrosión es considerada como una “metalurgia reversa” o remineralización de metales que fueron tratados metalúrgicamente (Fontana, 1987); la formación de óxidos es espontánea, ya que vuelven a su estado natural (Chang & Goldsby, 2013). La Figura 1 muestra un proceso de corrosión típico en una pieza de zinc.

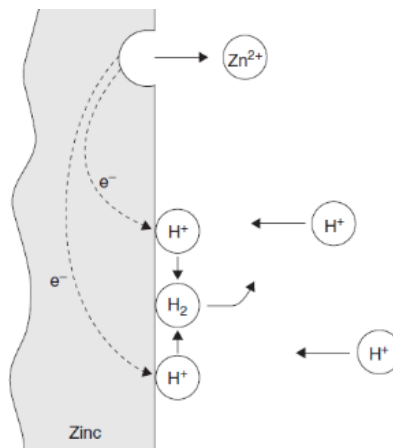


Figura 1. Reacciones electroquímicas de corrosión que ocurren durante la disolución de zinc en ácido clorhídrico desaireado. (Roberge, 2008)

Para que la corrosión ocurra es necesario cumplir con los siguientes cuatro factores: un ánodo (oxidación), cátodo (reducción), un medio electrolítico y un conductor (generalmente el mismo metal o un cable metálico) que una al ánodo y cátodo (ver Figura 2) (Galván, 2019).

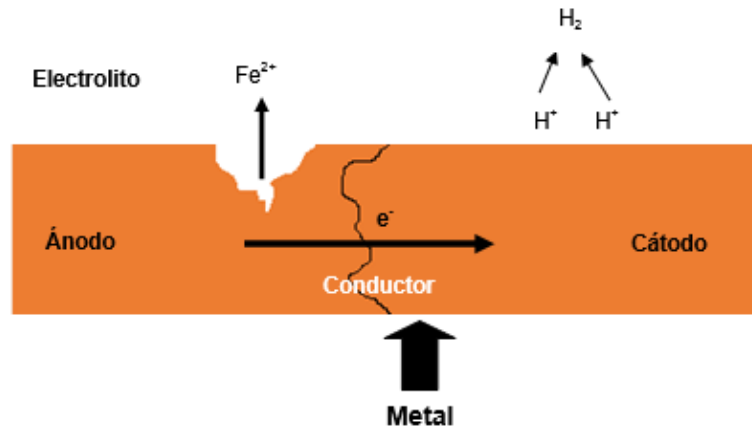


Figura 2. Cuatro componentes fundamentales en el proceso de corrosión. (Elaborado por Jacobo Recio)

1.1.2 Costos de la corrosión

El desgaste de metales ocasiona problemas económicos, sociales y ambientales en cualquier industria, es necesario atender este inconveniente aplicando técnicas que prolonguen el tiempo de vida de los metales o utilizando métodos de protección. Dicho lo anterior, con la finalidad de evitar fugas o derrames de químicos, paros por reparación, contaminación ambiental, riesgo a personal humano o hasta accidentes mayores.

El estudio “Medidas Internacionales de Prevención, Aplicación y Economía de la Tecnología de la Corrosión (Impacto)” promovido por (NACE-International, 2016) estimó que el costo global por corrosión es de \$ 2.5 billones de dólares, equivalente al 3.4 % del producto interno bruto mundial (PIB).

Los gastos por corrosión se dividen en dos tipos: los directos e indirectos. Los directos son por pagos a especialistas sobre corrosión, por capacitación de personal, reparación y reemplazo de piezas, por aplicación de mecanismos de corrosión y por mantenimientos preventivos (UPC, 2012; Van Delinder, 1984).

Respecto a los costos indirectos, estos implican la interrupción temporal del personal involucrado, pérdida de productividad, de producto y costos por accidentes (UPC, 2012).

1.1.3 Tipos de corrosión

Existen dos formas de clasificar la corrosión: la electroquímica (y química) y la morfológica. La corrosión química dada por medios no iónicos y la electroquímica por medios iónicos y de transporte de carga. Corrosión de acuerdo al tipo de ataque morfológico, esta incluye: corrosión uniforme (toda la superficie metálica) y la corrosión localizada (en sitios determinados del metal). Esta última se divide en: corrosión galvánica, por hendiduras, picaduras, cavitación (turbulencia), microbiológica, erosiva, intergranular y por tensión (ver Figura 3) (Bilurbina, Liesa e Iribarren, 2003).

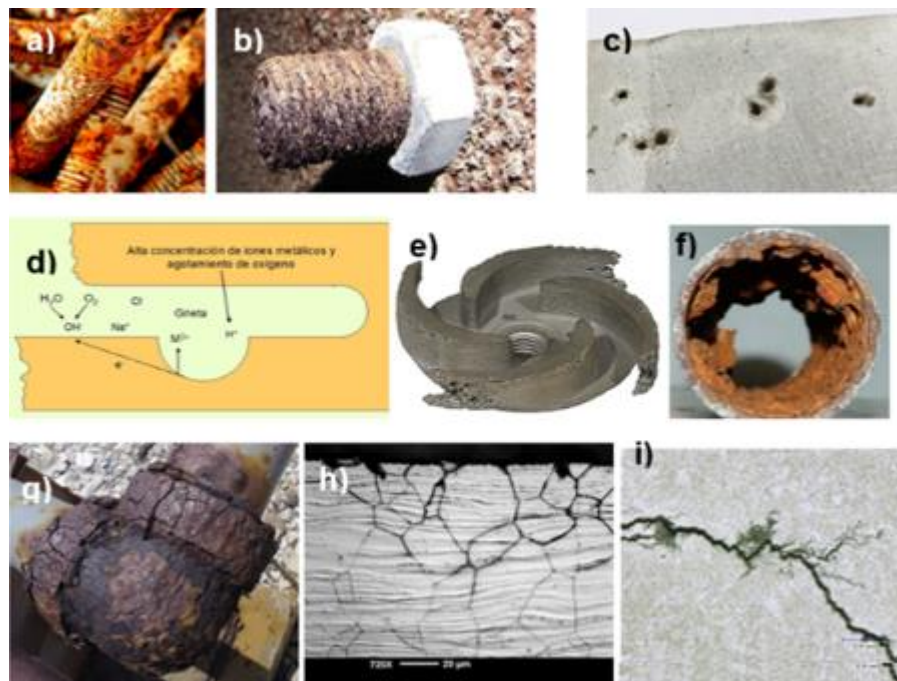


Figura 3. Tipos de corrosión: a) corrosión uniforme; b) corrosión galvánica; c) corrosión por picaduras; d) corrosión por hendiduras; e) corrosión por cavitación; f) corrosión microbiológica; g) corrosión por erosión; h) corrosión intergranular; i) corrosión por tensión. (Elaborado por Jacobo Recio)

1.2 Corrosión inducida por microorganismos (MIC) o biocorrosión

El proceso de corrosión microbiológica (MIC, por sus siglas en inglés) es el proceso donde algunos microorganismos como bacterias, hongos o algas deterioran materiales metálicos debido a una falla superficial o porque actúan

como aceleradores de corrosión localizada en medios acuosos con metales sumergidos (Viloria, Márquez, Estrada, & Licona, 2009).

En la biocorrosión participan microorganismos capaces de iniciar o acelerar una reacción de corrosión ya que generan metabolitos que afectan la interfase metal/solución (Medina, 2006). La Figura 4 muestra un esquema de biocorrosión.

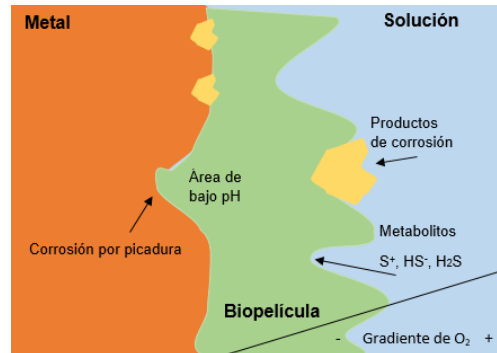


Figura 4. Esquema de biocorrosión de un metal con una biopelícula adherida inmerso en solución. (Elaborado por Jacobo Recio)

La MIC produce cinco formas de corrosión: destrucción de películas protectoras en superficies metálicas; generación de ambientes ácidos localizados; creación de depósitos corrosivos; alteración de reacciones anódicas y catódicas; y la interferencia en mecanismos de protección contra la corrosión (Videla, Manual of Biocorrosion, 1996). Los microorganismos involucrados en la MIC son de gran ubicuidad y colonizan áreas metálicas generalmente inaccesibles (Andrade, 1991).

Para que ocurra la biocorrosión es necesaria la presencia de un metal, una biopelícula o consorcio microbiano y productos de corrosión. La biopelícula está compuesta de una matriz extrapolimérica (macromolecular) donde se encuentran embebidos tanto los microorganismos como sus productos secretados (Miranda *et al.*, 2006).

1.2.1 Participación de microorganismos en la corrosión

De acuerdo con (Pulido, 2000), los microorganismos participan en el proceso de corrosión mediante:

- Producción de metabolitos corrosivos derivados de su metabolismo y crecimiento, convirtiendo el electrolito inerte en agresivo.
- Formación de celdas de aireación diferencial por el desigual consumo de oxígeno en zonas localizadas, usualmente en la zona interfásica.
- La destrucción de películas protectoras metálicas.
- Consumo de sustancias inhibidoras de corrosión, facilitando la acción de iones agresivos presentes en el electrolito.

El factor clave para la alteración de las condiciones de la superficie metálica, y con esto un incremento (o retardo) de la velocidad de corrosión, es la composición del “*biofilm*” o biopelícula (Videla & Herrera, 2005). Los microorganismos que comúnmente se asocian a la corrosión microbológica, de acuerdo a (Medina, Ortiz, Jacobo & Schouwenaars, 2009), se presentan en el Cuadro I.

Cuadro I. Microorganismos asociados a la corrosión microbológica. (Medina et al., 2009)

Género	pH	T (°C)	Requerimiento de O ₂
<i>Desulfovibrio desulfutricans</i>	4-8	10-40	Anaerobia
<i>Desulfotomaculum nigrificans</i>	6-8	45-75	Anaerobia
<i>Clostridium spp.</i>	-	10-40	Anaerobia
<i>Desulfomonas spp.</i>	0.5-8	10-40	Aerobia
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	1-7	10-40	Aerobia
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	7-10	20-40	Aerobia
<i>Gallionella spp.</i>	7-10	20-40	Aerobia
<i>Sphaerotillus spp.</i>	4-9	20-40	Aerobia
<i>Pseudomonas spp.</i>	4-8	20-40	Aerobia
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3-7	10-45	Aerobia
<i>Cladosporium resinae</i>	-	-	-

1.2.2 Tipos de interacción entre el microorganismo y el metal

En la MIC existen dos tipos de biocorrosión: microorganismos que inhiben las velocidades de corrosión y protegen el metal, y los que aceleran la velocidad de corrosión y perjudican la integridad del metal (Ramos, 2008; Dubiel *et al.*, 2002).

La MIC se divide en dos grupos según la forma de agresión microbiana: ataque activo y ataque pasivo. En el ataque pasivo el desgaste metálico se debe a la formación de biomasa y productos inertes, esto origina corrosión lenta y de tipo general (SIU, 2004). Sin embargo, en el ataque activo se presenta biocorrosión intensa y localizada con mayor incidencia de irregularidades en la superficie metálica debido a los productos microbiológicos generados (Ramos, 2008).

1.2.2.1 Biocorrosión activa

Los microorganismos aerobios y anaerobios cuando crecen en una biopelícula cambian las características químicas y su dinámica, es decir, se modifican a través del tiempo (Else, Pantle & Amy, 2003). Los factores que influyen en la agresividad de una bacteria corrosiva son: temperatura, concentración total de carbono y nitrógeno orgánico, flujo en el sistema, concentración de oxígeno, tratamiento químico y pH (Ramos, 2008). Los tipos de bacterias que ocasionan biocorrosión activa, de acuerdo al tipo de producto generado, se muestran en el Cuadro II.

1.2.2.2 Biocorrosión pasiva

Este tipo es causado por sustancias químicamente inertes y es la misma si el microorganismo está vivo o muerto; la corrosión solo ocurre por los productos metabólicos. Entre estos materiales están sustancias poliméricas extracelulares (EPS) como hebras entremezcladas con bacterias, agua y gases. La biomasa tiende a formarse en las superficies y adherirse a ellas (Marchal, Chaussepied & Warzymoda, 2001). De acuerdo con SIU (2004), para que en un diagnóstico de corrosión se pueda atribuir a causas biológicas, se deben contar con lo siguiente:

- El material biológico presente cuando suceda el ataque corrosivo.
- La morfología de la corrosión debe ser consistente con el ataque biológico.
- Los productos y depósitos de corrosión deben ser característicos de una interacción biológica.

Cuadro II. Tipos de bacterias que ocasionan biocorrosión activa.

Tipo de bacteria	Producto	Fundamento	Reacciones involucradas	Referencia
Bacterias Sulfato reductoras o BSR	Sulfuros, especialmente ácido sulfhídrico (H ₂ S)	Generalmente por bacterias anaerobias, mediante la enzima hidrogenasa, utilizan sulfato, tiosulfato y sulfitos como receptores de electrones y la materia orgánica como fuente de energía para el crecimiento	<p>Reacción general: Reducción en medio ácido (H⁺) Sulfatos inorgánicos → sulfuros</p> <p>Reacción anódica: $4\text{Fe}^0 \rightarrow 4\text{Fe}^{2+} + 8\text{e}^-$</p> <p>Reacción catódica: $8\text{H}^+ + 8\text{e}^- \rightarrow 8\text{H}$</p> <p>Disociación del agua: $8\text{H}_2\text{O} \rightarrow 8\text{H}^+ + 8\text{OH}^-$</p>	(De Turrís, Romero, Papavinasam & Ocando, 2013; Flores, Patiño-Carachure, Alfonso, Rodríguez & Rosas, 2012)
Bacterias productoras de ácido	H ₂ S	Disminuyen el pH, aceleran la corrosión y pueden producir ácidos orgánicos de cadena corta; actúan sinérgicamente con las BSR en la biocorrosión	<p>Reacción de las BSR: Reducen el sulfato a sulfuros</p> <p>Reacción de las productoras de ácido: Oxidan sulfuros a sulfatos</p>	(Ramos, 2008)
Bacterias productoras de EPS	Babaza o sustancias poliméricas extracelulares (EPS)	Aerobias, producen redes poliméricas extracelulares donde el 99% es agua, consumen oxígeno y promueven la formación de celdas de aireación diferencial	<p>Producción de EPS:</p> <p>Bacterias producen polisacáridos, material genético, proteínas y el agua de las EPS</p>	(Jamal <i>et al.</i> , 2015)
Bacterias nitrificantes	Nitrato (NO ₃ ⁻)	Son bacterias aerobias capaces de oxidar el NH ₃ a NO ₃ ⁻ , estas disminuyen el pH y la concentración de O ₂	<p>Reacción general: Intermediario el ion nitrito (NO₂⁻) $\text{NH}_3 \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$</p>	(Ramos, 2008)

1.3 Biopelículas

1.3.1 Concepto de biopelícula

Una biopelícula es una comunidad de agregados microbianos sésiles que se une irreversiblemente a una superficie o sustrato y que está embebida en una matriz compuesta por sustancias poliméricas extracelulares (EPS, por sus siglas en inglés) producida por ellos mismos (Figura 5) (Farinati, 2015; Castrillón, Palma & Desgarenes, 2013; Lewandowski & Beyenal, 2007).

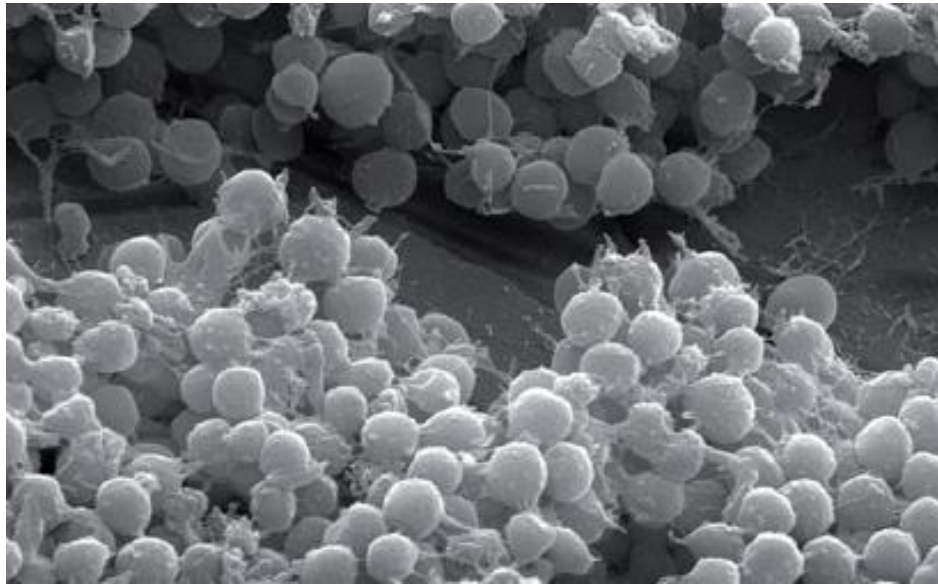


Figura 5. Biopelícula de *Staphylococcus aureus* sobre acero inoxidable observada por microscopía electrónica de barrido. (Azeredo *et al.*, 2016)

Como menciona (Nazar, 2007), en la naturaleza existen las bacterias planctónicas (de libre flotación) y las bacterias sésiles (asociadas en biopelículas). Los microorganismos pueden crear condiciones químicas y biológicas para formar biopelículas (ubicuas) en casi cualquier ambiente sólido y/o líquido. Asimismo, la interfase (como un metal sumergido en agua) proporciona un entorno ideal para la fijación y crecimiento de microorganismos sobre ésta (Sanderson, Leid & Hunsaker, 2006).

1.3.2 Composición de las biopelículas

La arquitectura de la biopelícula consta de dos componentes principales: un canal de agua para el transporte de nutrientes y una región de empaquetado denso de

materia orgánica (Ramos, 2008). Los microorganismos que forman consorcios producen EPS constituidos por proteínas, ADN, ARN, polisacáridos y agua, esta última se encarga del flujo de nutrientes (Jamal *et al.*, 2015). El Cuadro III muestra la composición química de las biopelículas.

Cuadro III. Composición de las biopelículas. (Jamal *et al.*, 2015)

Componentes	Porcentaje en la biopelícula
Células microbianas	2-5 %
ADN y ARN	<1-2 %
Polisacáridos	1-2 %
Proteínas (junto con enzimas)	<1-2 %
Agua	>97 %

1.3.3 Funciones de las sustancias poliméricas extracelulares (EPS)

Las EPS permiten la adhesión de microorganismos, iniciando y perdurando la colonización de un sustrato inerte o vivo y es crucial para la unión a largo plazo, las sustancias que provocan esto son polisacáridos, proteínas y moléculas anfifílicas (Flemming & Wingender, 2010). En el Cuadro IV se muestra la función de las EPS así como la relevancia que tiene en una biopelícula.

Cuadro IV. Funciones de las EPS en las biopelículas bacterianas. (Flemming & Wingender, 2010; Lewandowski & Beyenal, 2007)

Función en la biopelícula	Acción	Componentes EPS involucrados
Agregación de bacterias.	Interacción celular, inmovilización temporal de poblaciones bacterianas, desarrollo de densidades altas celulares y reconocimiento celular.	Polisacáridos, proteínas y ADN.
Cohesión de biopelículas.	Forma una red de polímeros hidratados (matriz celular) la cual regula la estabilidad mecánica (va junto con la acción de cationes multivalentes), también permite la comunicación celular.	Polisacáridos neutros y cargados, proteínas (amilasas y lectinas) y ADN.
Retención de agua.	Microentorno hiperhidratado en toda la biopelícula, resguardándola de ambientes secos.	Polisacáridos hidrofóbicos y algunas proteínas.
Barrera protectora.	Resistencia a sustancias ajenas al consorcio, confiere tolerancia a los desinfectantes y antibióticos, además, las enzimas producidas protegen a los microbios anaerobios del O ₂ .	Enzima nitrogenasa cianobacteriana o superóxido dismutasa, polisacáridos y algunas proteínas.
Adsorción de compuestos orgánicos.	Acumulación de nutrientes orgánicos del medio ambiente.	Polisacáridos cargados, hidrofóbicos y proteínas.
Adsorción de iones inorgánicos.	Formación de polisacáridos, intercambio iónico, formación de minerales y acumulación de iones metálicos tóxicos.	Polisacáridos cargados y proteínas, así como sulfatos y fosfatos.
Actividad enzimática.	Digestión de macromoléculas exógenas para nutrirse, adquisición y degradación de EPS permitiendo la liberación de las células de vuelta al medio ambiente.	Proteínas.
Fuentes nutrientes.	Fuente de C, N y P, compuestos vitales para el crecimiento de la biopelícula.	Todos los componentes de la EPS.
Intercambio de información genética.	Facilita la transferencia horizontal de genes entre las células del consorcio.	ADN nuclear y plasmídico.
Donadores o aceptores de electrones.	Fomenta la actividad redox en las proteínas de la matriz.	Sustancias húmicas e iones metálicos y orgánicos.
Exportación de componentes celulares.	Liberación de material celular como resultado del recambio metabólico.	Vesículas celulares contiene ácidos nucleicos, enzimas, proteínas, lipopolisacáridos y fosfolípidos.
Regeneración por exceso de energía.	Almacenamiento de exceso de carbono en las células.	Polisacáridos.
Enzimas de unión.	Acumulación, retención y estabilización enzimáticas en la biopelícula.	Polisacáridos y enzimas.

1.4 Aceros inoxidables

1.4.1 Historia del acero inoxidable

El acero inoxidable fue fabricado por primera vez por Harry Brearley (1871-1948); en 1913 Brearley produjo una aleación con 0.24% carbono y 12.8% de cromo resultando resistente a la corrosión, además, se dio cuenta que los aceros con alto nivel de cromo disuelto no eran atacados en disoluciones nítricas diluidas (Alanís, 2011). La pasividad de los aceros inoxidables fue estudiada más adelante con el fin de determinar el efecto del cromo sobre la corrosión y también se estudió el efecto del molibdeno. Una vez finalizada la Segunda Guerra Mundial, y gracias a las innovaciones técnicas en el sector siderúrgico, se consiguió un gran aumento de producción de aceros inoxidables, con un abaratamiento en sus costos de producción generando la baja de precios en el mercado (Alanís, 2011).

Según (Sevilla, 2014), la producción mundial de acero inoxidable entre 2005 y 2014 aumentó de 24,546 millones de toneladas métricas a 41,686 millones, respectivamente. La Figura 6 muestra un gráfico que indica la cantidad de toneladas producidas medidas en volumen métrico desde el año 2005 hasta 2014.

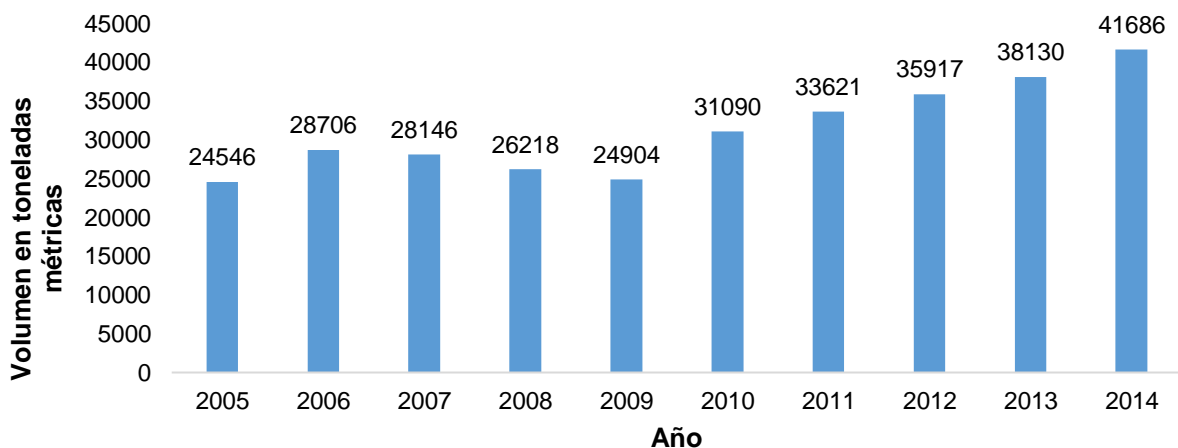


Figura 6. Producción mundial de acero inoxidable en el periodo 2005-2014. (Sevilla, 2014)

1.4.2 Acero inoxidable

Según la Asociación Estadounidense de Materiales (ASM International, por sus siglas en inglés) los aceros inoxidables son aleaciones de hierro y carbono que contienen como mínimo 12% de cromo en su composición, cantidad necesaria para prevenir formación de óxidos sobre la superficie (ASM International, 2000).

De acuerdo con la Asociación Británica del Acero Inoxidable (BSSA, por sus siglas en inglés), una aleación de acero inoxidable tiene como mínimo 10.5% de cromo, ya que a esa concentración se forma una capa pasiva protectora sobre la superficie del metal, si se aumenta la cantidad de cromo aumenta la resistencia a la corrosión (BSSA, 2018).

La resistencia de aceros inoxidables a la corrosión se debe a la capacidad de formar una película adherente, compacta y estable de óxido de cromo (Cr_2O_3), la cual protege el metal ante un ambiente oxidante (Alanís, 2011). Cuando esa película es atacada por el ambiente oxidante, ya sea oxígeno molecular (O_2), iones hidrógeno (H^+), agua (H_2O) u otros agentes oxidantes, esta película se regenera, manteniendo una protección permanente del acero (Figura 7).

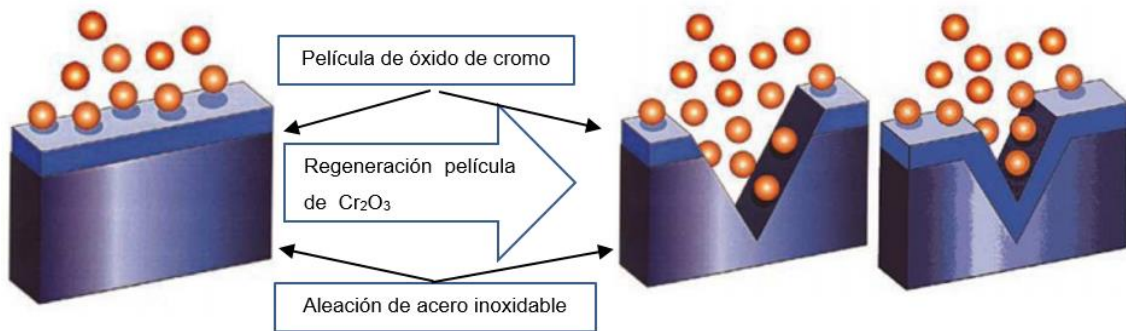


Figura 7. Regeneración de la película de óxido de cromo. (Alanís, 2011)

Otros elementos químicos se pueden añadir a los aceros inoxidables para mejorar las características de la aleación, tales son: níquel, nitrógeno, manganeso, molibdeno, cobre, titanio, silicio, niobio, aluminio, azufre y selenio, entre otros; en cuanto al carbono, este elemento está presente entre cantidades de 0.03 hasta 1.2% (ASM International, 2000).

1.4.3 Pasividad de los aceros inoxidables

La pasividad de los aceros inoxidables es atribuida a la formación de una película compacta, estable y adherente de óxidos de cromo protectora de la superficie del metal; esa película posee propiedades semiconductoras y se pueden estudiar fenómenos de corrosión (Burgos, Bruera, Ares & Méndez, 2015). De acuerdo con (Cerdán, 2013), la pasividad de una superficie de acero inoxidable está caracterizada por poseer bajas velocidades de corrosión, en una región de potencial oxidante para el metal (Carmezim, Simoes, Montemor & Da Cunha, 2005).

De todas las propiedades de los aceros inoxidables, la pasividad es la más importante debido a que proporciona la resistencia a la corrosión (Cerdán, 2013). Las primeras capas externas atómicas del metal son determinantes para el proceso de pasivación ya que constituyen la zona de interacción directa con el entorno, interacciones como: corrosión, desgaste o disolución; estos procesos comienzan con un daño superficial (Millholland, 2014). La pasivación ocurre de forma espontánea cuando el cromo presente en el acero inoxidable entra en contacto con el O_2 presente en el aire (Walter Mexico, s.f). La reacción química que sucede genera una capa pasiva de óxido de cromo (Cr_2O_3) la cual protege la superficie de acero inoxidable (Walter Mexico, s.f).

Se ha encontrado que al exponer aceros inoxidables austeníticos en disoluciones ácidas se forman películas pasivas de óxidos de cromo (III) y hierro (III), la mayoría de esas capas formadas compuestas por Cr_2O_3 y una capa externa de hidróxidos (Cerdán, 2013). La Figura 8 muestra el proceso de pasivación química en un metal.

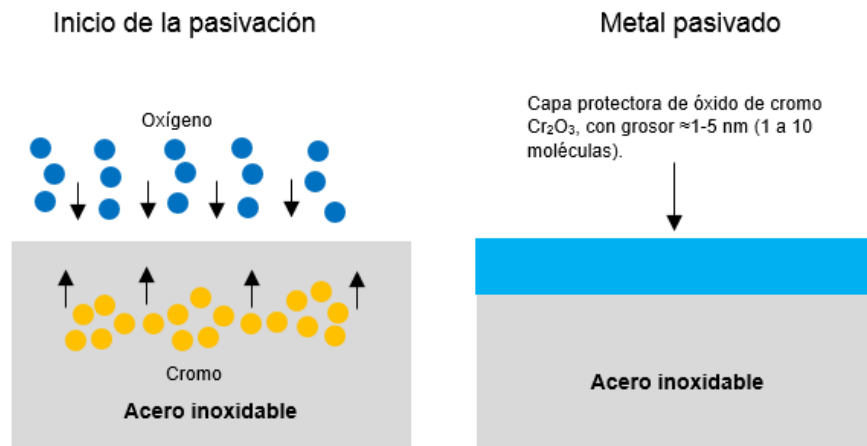


Figura 8. Proceso de pasivación del acero inoxidable. (Elaborado por Jacobo Recio)

Un aspecto que considerar respecto a este tipo de metales es la presencia de elementos aleantes que causan efectos en la estructura cristalina del acero modificando las propiedades de la aleación (Ibarra, Núñez & Huerta, 2010).

En el Cuadro V se mencionan las principales características químicas de los elementos aleantes en un acero inoxidable.

Cuadro V. Elementos de aleación en aceros inoxidable y sus respectivas funciones. (Leffler, 1996).

Elemento aleante:	Función:
Carbono	Promueve estructuras austeníticas, aumenta la resistencia mecánica y a la corrosión intergranular. En aceros inoxidable ferríticos reduce la tenacidad y resistencia a la corrosión. En aceros martensíticos aumenta la dureza y la resistencia.
Cromo	Aporta la resistencia a la corrosión, y aumenta la resistencia al incrementar el contenido de cromo.
Níquel	Promueve una estructura austenítica, aumenta la ductilidad, tenacidad y reduce la velocidad de corrosión.
Molibdeno	Aumenta la resistencia a la corrosión general y localizada, aumenta la resistencia mecánica y promueve una estructura ferrítica.
Cobre	Aumenta la resistencia a la corrosión en ambientes ácidos y promueve estructura austenítica.
Manganeso	Mejora la ductilidad en caliente del acero inoxidable, a bajas temperaturas es un estabilizador de austenita y en altas temperaturas estabiliza la ferrita.
Silicio	Aumenta la resistencia a la oxidación a altas y bajas temperaturas en disoluciones fuertemente oxidantes y promueve estructuras ferríticas.
Nitrógeno	Promueve la formación austenítica, aumenta la resistencia mecánica y la resistencia a corrosión localizada, especialmente con molibdeno. En ferríticos, reduce la tenacidad y la corrosión. En aceros martensíticos aumenta la dureza como la resistencia, pero reduce la tenacidad.
Titanio	Es fuerte formador de ferrita, en austeníticos aumenta la resistencia a la corrosión intergranular. En ferríticos mejora la tenacidad y la resistencia a la corrosión ya que reduce la cantidad de sitios intersticiales en disolución sólida. En martensíticos disminuye la dureza de la martensita y aumenta la resistencia.
Niobio	Promueve una estructura ferrítica. En aceros austeníticos mejora la resistencia a la corrosión intergranular. En aceros martensíticos reduce la dureza.
Aluminio	Mejora la resistencia a la oxidación y se utiliza en ciertas aleaciones resistentes al calor.
Cobalto	Se usa solo en los aceros martensíticos donde aumenta la dureza y la resistencia a altas temperaturas.
Vanadio	Aumenta la dureza de los aceros martensíticos debido a su efecto sobre el tipo de carburo presente, aumenta la resistencia al temple del acero, estabiliza la ferrita y, en altos contenidos, promueve estructura ferrítica.
Azufre	Se agrega a ciertos aceros inoxidable con el fin de aumentar la maquinabilidad de estos y aumentan la capacidad de soldabilidad y conformabilidad.
Cerio	Se agrega en pequeñas cantidades para aumentar la resistencia a la corrosión a altas temperaturas.
Iterbio	Puede ser usado para ayudar a mejorar el refinamiento del grano, la fuerza, y otras propiedades mecánicas del acero inoxidable.

1.4.4 Tipos de aceros inoxidable según su microestructura

Una fase se define como una porción homogénea de un sistema que tiene características fisicoquímicas uniformes (Callister, 2012). Un diagrama de fases aporta información sobre las microestructuras cristalinas metálicas en función de la composición química, así como del efecto de la presión y la temperatura (Askeland, Fulay & Wright, 2012). Los tres principales tipos de aceros inoxidable utilizados en la industria son los martensíticos, ferríticos y austeníticos; nombres derivados de la fase predominante a temperatura ambiente (Ibarra et al., 2010).

Un mayor contenido de cromo aumenta la resistencia a la corrosión, mientras que contenido mayor de carbono aumenta la dureza (MIPSA, s.f.). La Figura 9 muestra dos diagramas de fase para los tipos de aceros.

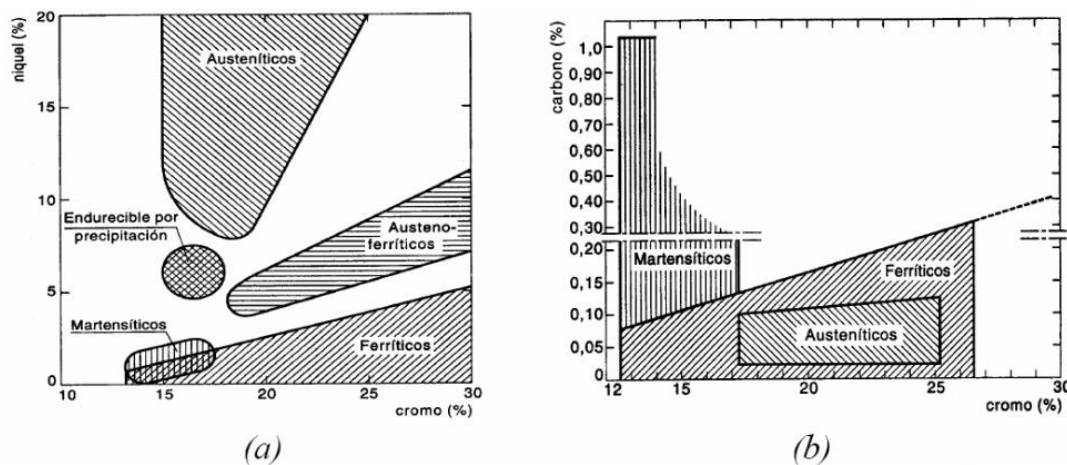


Figura 9 Diagrama de fases para los tipos de aceros: a) en función del contenido de cromo y níquel; b) en función del contenido de cromo y carbono. (Alanís, 2011)

Existen diversos tipos de aceros inoxidable de acuerdo con su composición en cromo y no todos son adecuados para aplicaciones estructurales (Alanís, 2011; Ibarra et al., 2010). “En ciertas aleaciones de aceros inoxidable se disminuye el contenido de carbono para evitar problemas de corrosión al momento de aplicar soldadura” (Alanís, 2011). Conforme a la microestructura y composición química, hay cuatro tipos de aceros inoxidable: austeníticos, ferríticos, martensíticos y tipo dúplex.

1.4.4.1 Aceros inoxidables austeníticos

La austenita es una disolución sólida de carbono en hierro gama ($Fe\gamma$) con estructura cristalina centrada en las caras (FCC), cuya máxima estabilidad fásica alcanza los 1394 °C (Callister, 2012). Los aceros austeníticos contienen níquel como segundo elemento principal de aleación (después del cromo). El níquel se utiliza para evitar que se transforme la austenita a otras estructuras cristalinas e incluso la estabiliza a temperatura ambiente (Ibarra *et al.*, 2010).

La serie AISI 300 (*American Iron and Steel Institute*) de aceros inoxidables austeníticos (contenido de cromo entre 15 al 32 % y contenido de níquel del 8 al 37 %) se utilizan en la mayor parte de las aplicaciones de soldadura (Ibarra *et al.*, 2010). Estos poseen elevada resistencia a la corrosión en distintos ambientes corrosivos, aunque son vulnerables al agrietamiento por corrosión bajo esfuerzo (SCC o *stress corrosion cracking*) en ambientes clorados. La plasticidad de la estructura austenítica en los aceros inoxidables aporta tenacidad y excelente resistencia al impacto a temperaturas criogénicas (Ibarra *et al.*, 2010). La Figura 10 muestra una fotografía tomada en microscopio óptico de un acero inoxidable austenítico.



Figura 10. Micrografía de un acero inoxidable austenítico mediante microscopía. (Sidorovas, Cedeño, & Rodríguez, 2014)

1.4.4.2 Aceros inoxidables ferríticos

La ferrita es una estructura cristalina centrada en el cuerpo (BCC) con hierro alfa ($Fe\alpha$) (Callister, 2012). Este tipo de aleaciones se caracterizan por poseer una estructura ferrítica a cualquier temperatura ya que no presentan transformación

de ferrita a austenita durante el calentamiento ni transformación martensítica en el enfriamiento (Ibarra *et al.*, 2010). Por esta razón no hay posibilidad de cambios de fase. Son conocidos como los “aceros inoxidable de cromo directo”, el contenido de cromo varía entre 10.5 al 30%, y con bajos contenidos de carbono (MIPSA, s.f.).

De acuerdo con Alanís (2011), en este tipo de microestructura, la soldabilidad es mayor que en los grados martensíticos pero menor que los grados austeníticos. Los aceros con menor contenido de cromo (10,5%) se denominan “inoxidables al agua”, pues no resisten sostenidamente medios más agresivos (Ibarra *et al.*, 2010). La Figura 11 muestra una estructura ferrítica.

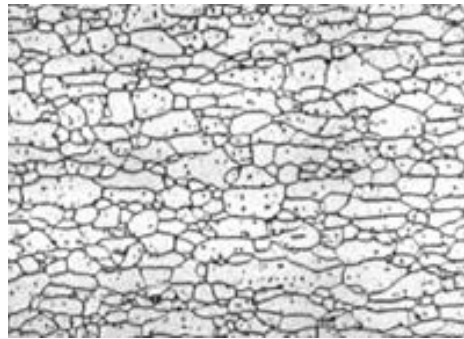


Figura 11. Estructura ferrítica de un acero inoxidable.

1.4.4.3 Aceros inoxidables martensíticos

La microestructura cristalina de la martensita es, según Callister (2012), estructura producida por el efecto de enfriamiento rápido hasta temperatura ambiente de un acero austenítico dificultando la difusión de su contenido de carbono. Según Ibarra y colaboradores (2010), éstos fueron los primeros aceros inoxidables desarrollados comercialmente (para usos cotidianos como la fabricación de cuchillos) y tienen contenido relativamente alto del carbono (0,1 a 1,2%) comparado a otros aceros inoxidables. Los aceros de este grupo no contienen más de 14 % de cromo (Ibarra *et al.*, 2010).

Estos no contienen níquel, presentan moderada resistencia a la corrosión, baja soldabilidad variando el contenido de carbono y poseen excelente resistencia mecánica (Ibarra *et al.*, 2010). La Figura 12 muestra una estructura martensítica.

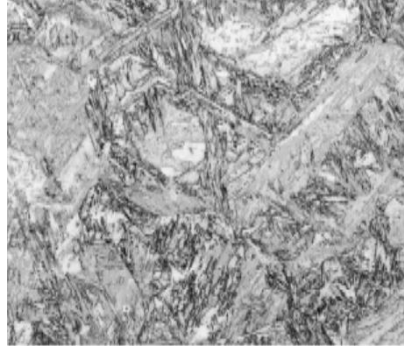


Figura 12. Micrografía de una estructura martensítica de un acero inoxidable. (Alanís, 2011)

1.4.4.4 Aceros inoxidables tipo Dúplex

Son aleaciones de acero con cromo, molibdeno y una cantidad determinada de estabilizadores de austenita como níquel y nitrógeno para lograr el balance deseado entre fases ferríticas y austeníticas, de ahí la designación “dúplex”; el nitrógeno aumenta el límite de fluencia y reduce la velocidad de la formación de compuestos intermetálicos frágiles (Leffler, 1996). El molibdeno mejora la resistencia a la corrosión por picadura y rendija (Ibarra *et al.*, 2010).

Los aceros dúplex (o ferrítico-austeníticos) se caracterizan por su alta resistencia, buena tenacidad, muy buena resistencia a la corrosión en general y excelente resistencia al agrietamiento por corrosión bajo tensión y fatiga por corrosión en particular (ASM International, 2000).

Este tipo de aceros componen muchos sistemas de flujo o almacenamiento tales como: tanques de agua caliente en las cervecerías, torres de almacenamiento de celulosa en el industria de papel, tanques para almacenamiento de químicos en la industria de procesos químicos, tanques en la industria gasífera, así como ductos petrolíferos o tuberías sumergidas en ambientes hiperconcentrados en sales (Leffler, 1996). La Figura 13 muestra una estructura dúplex reportada por Alanís en el 2011.

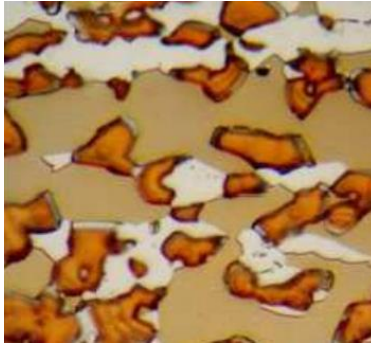


Figura 13. Micrografía de un acero inoxidable Dúplex.

1.5 Técnicas electroquímicas para el estudio de MIC

1.5.1 Generalidades

Actualmente la corrosión microbiológica puede ser evaluada por métodos electroquímicos bastante ventajosos, estas técnicas pueden ofrecer datos de forma rápida, confiable y no necesariamente se tiene que dañar la muestra metálica para la obtención de resultados (Meas, López, Rodríguez, Ávila & Genescá, 1991).

De acuerdo con Medina y colaboradores (2009), algunas de las técnicas electroquímicas para evaluar la corrosión microbiológica son:

- Potencial de circuito abierto (OCP). Técnica sin perturbación y solo monitorea el potencial del electrodo de trabajo respecto a la referencia.
- Resistencia a la polarización lineal (LPR), técnica de campo bajo que no es destructiva y es de corriente directa.
- Espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS), técnica de campo bajo que monitorea la interfase metal/electrolito, no es destructiva y es de corriente alterna.

1.5.2 Potencial de circuito abierto (OCP)

Es preciso mencionar que antes de realizar las pruebas electroquímicas de imposición de voltaje en estado estacionario (como LPR y EIS) es necesario conocer el potencial de corrosión (E_{corr}) o potencial de circuito abierto (OCP, por

sus siglas en inglés) del metal con la finalidad de ubicar el E (potencial) en un electrodo de trabajo respecto a una referencia cuando no existe corriente o potencial en la celda (Sahrani, Nawawi, Usup & Ahmad, 2014). Se dice que la medición del OCP es “potenciométrica” ya que está basada en la medición del E de corrosión (BASi, s.f).

La medición del E_{corr} es respecto al tiempo, por lo que un potencial positivo es termodinámicamente estable (menos tendencia a corroerse), mientras que el potencial más negativo se considera termodinámicamente inestable y propenso a la corrosión (Riskin & Khentov, 2019).

La magnitud y signo del E_{corr} depende del metal, la composición del medio, temperatura, condiciones hidrodinámicas, pH, etc. (Medina *et al.*, 2009). En la práctica resulta ser una prueba muy sencilla de realizar, su desventaja radica en que no determina valores y cambios en velocidades de corrosión.

1.5.3 Resistencia a la polarización (LPR)

Esta técnica se basa en obtener el valor de la resistencia a la polarización (R_p) del metal, no es destructiva ya que es de campo bajo, es decir, el voltaje aplicado es pequeño. Generalmente se trabaja con perturbaciones de hasta 0.03 V pero muchos estudios en corrosión utilizan 0.01 V y con velocidades de barrido de 0.166 mV/s establecidos por las normas ASTM, aunque muchos estudios mencionan que con 1 mV/s se puede trabajar sin afectar el valor de R_p y V_{corr} (Roberge, 2008).

Una LPR es una curva de polarización, ya que habrá una dirección catódica y una anódica (Medina *et al.*, 2009). Como el potencial aplicado (sobrepotencial) es muy cercano al E_{corr} , la densidad de corriente se comportará lineal; existe linealidad en el gráfico de E contra $\text{Log } i$ (densidad de corriente), por lo que aplica la ecuación de la recta $y=mx+b$ o $E=m\text{Log } i + b$, donde la pendiente es:

$$m = \frac{y_2 - y_1}{x_2 - x_1} = \frac{\Delta E}{\Delta \text{Log } i} = R_p \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde la diferencia entre los puntos de potencial y corriente divididos da como resultado la resistencia a la polarización, R_p dada en ohms (Ω). Esto aplica a procesos activacionales y de corrosión uniforme y se menciona que entre los 118-120 mV (Rodríguez-Gómez, 2016; Jones, 1996) hay linealidad tanto en la zona anódica como en la catódica. La Figura 14 muestra un gráfico de R_p .

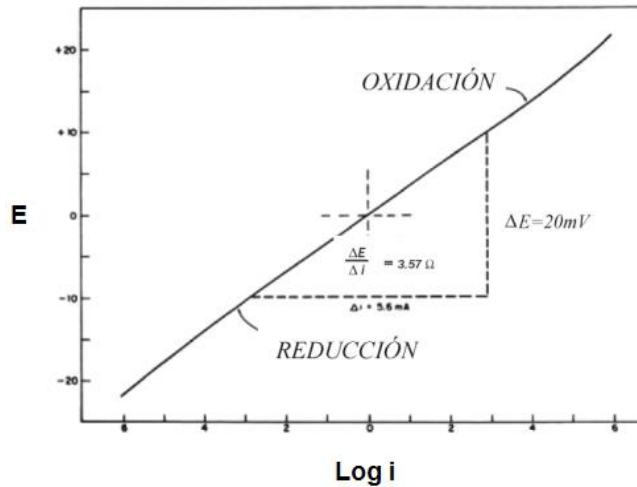


Figura 14. Gráfico de LPR donde se muestra la linealidad a bajos sobrepotenciales y la obtención de R_p por la pendiente; la zona anódica superior y la zona catódica al inferior.

Al obtener el valor de R_p , la relación existente entre este y la i_{corr} (densidad de corriente de corrosión) está dada por:

$$i_{corr} = \frac{B}{R_p} \quad \text{Ecuación 2}$$

donde "B" es la constante de Stern y Geary, dada por:

$$B = \frac{b_a * b_c}{2.303(b_a + b_c)} \quad \text{Ecuación 3}$$

Que se obtiene experimentalmente calculando tanto la pendiente anódica como la catódica; y para pendientes anódicas y catódicas iguales a 0.12 V, la constante $B = 0.026$ V, por lo que:

$$i_{corr} = \frac{0.026 \text{ V}}{R_p} \quad \text{Ecuación 4}$$

Al obtener el valor de R_p de la expresión anterior, se obtiene la densidad de corriente de corrosión (i_{corr}) y subsecuentemente se puede calcular la velocidad de corrosión o V_{corr} .

Una consideración muy importante es que no se debe concluir mediante gráficos de LPR sobre la cinética de una reacción ya que esos gráficos aportan valores eléctricos, es necesario incluir la parte electroquímica explicada por la fórmula de Stern y Geary para poder obtener la i_{corr} y posteriormente V_{corr} . Si en la zona anódica aparece un proceso de pasivación (donde la i_a tiende a 0), se consideraría trazar solo la parte catódica y a partir de ese trazo obtener la i_{corr} mediante:

$$i_{corr} = \frac{b_c}{2.303R_p} \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde “ b_c ” es la pendiente de Tafel catódica dada en V y “ R_p ” es la resistencia a la polarización obtenida en una resistencia a la polarización lineal dada en Ω . Por su parte, si en la curva catódica aparece una zona lineal mediada i_c que tiende a infinito, es decir, un proceso influenciado difusionalmente, la i_{corr} se obtiene solo trazando la tangente en la zona anódica mediante:

$$i_{corr} = \frac{b_a}{2.303R_p} \quad \text{Ecuación 6}$$

1.5.4 Espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS)

Esta técnica está caracterizada por ser de campo bajo, es decir, no es destructiva y utiliza corriente alterna, por lo que la función gráfica será de carácter sinusoidal (Reece, s. f.). El potencial aplicado tiene una amplitud pequeña (polarizable en el metal) que en la mayoría de los estudios es de ± 10 mV de la función sinusoidal, la variable de entrada es el potencial: $E = E_a \sin(\omega t)$; donde “ E ” es el potencial dado en V, “ E_a ” es el potencial de amplitud, “ ω ” es la frecuencia angular dado en rad/s y “ t ” es el tiempo dado en s. La señal de respuesta en corriente es: $I = I_a \sin$

$(\omega t + \varphi)$; donde “ I ” es la corriente en A (amperes), “ I_a ” es la corriente de amplitud y “ φ ” es el ángulo de desplazamiento (Mendoza, Durán & Genescá, 2012).

Esta técnica permite conocer el valor de R_p con la ventaja de saber el valor de R_{sol} (resistencia de la solución) y la R_{ct} (resistencia de la transferencia de carga en el metal), por lo que es más poderosa que la técnica de LPR que solo permite conocer el valor de R_p sin considerar el de R_{ct} y R_{sol} (Cottis & Turgoose, 1999).

El propósito de esta técnica es monitorear la interfase metal/solución por la imposición de potencial pequeño con frecuencia variable y es aplicable en el campo de corrosión a metales con recubrimientos o pinturas (Galván, 2004). Además, otra ventaja que posee es que el sistema en estudio se lleva a un estado pseudoestacionario, es decir, la perturbación dada por la pequeña imposición de un potencial pequeño provoca que el sistema esté aproximado al equilibrio.

Al obtener los gráficos en esta técnica, en el dominio del tiempo se pueden obtener las impedancias (la resistencia equivalente en corriente alterna) a cada valor de frecuencia, estos gráficos toman el nombre de “espectros de impedancia”. La impedancia es definida como la resistencia que opone el conductor en un circuito de corriente alterna, por lo que la Ley de Ohm se transforma a: $E=IZ$, siendo “ Z ” la impedancia del conductor medido en Ω . De acuerdo con las normativas, la amplitud de potencial que se recomienda aplicar es de 0.01 V vs E_{corr} e ir de altas frecuencias a bajas, es decir, de 10,000 Hz a 0.01 Hz teniendo entre 6 y 7 décadas en magnitud.

Las respuestas que se obtienen al medir las impedancias a cada valor de frecuencia son las siguientes:

- La impedancia real e imaginaria dada cada una en ohm (Ω), que son números complejos, las expresiones para obtener cada impedancia son:

$$Z_{real} = |Z|\cos\theta \quad y \quad Z_{imaginaria} = |Z|\sen\theta \quad \text{Ecuación 7}$$

- El módulo de impedancia $|Z|$, dado por: $|Z|=\Delta E/\Delta I$. Y el módulo de impedancia del sistema a partir de la forma gráfica se obtiene por:

$$|Z| = \sqrt{Z_{real}^2 + Z_{imaginaria}^2} \quad \text{Ecuación 8}$$

- Ángulo de fase θ expresado en radianes, el cual es: $\tan \theta = Z_{imaginaria} / Z_{real}$.
Y el calculado a partir de la forma gráfica:

$$\theta = \arctan \frac{Z_{imaginaria}}{Z_{real}} \quad \text{Ecuación 9}$$

Las representaciones gráficas que se pueden obtener mediante el estudio de la espectroscopia de impedancia electroquímica son: diagramas de Nyquist ($Z_{imaginaria}$ contra Z_{real}) y diagramas de Bode (módulo de impedancia y ángulo de fase dado en grados contra la frecuencia en escala logarítmica).

Los diagramas de Nyquist o diagramas de plano complejo son representaciones gráficas de $Z_{imaginaria}$ contra Z_{real} que muestran un espectro de impedancias a cada valor de frecuencia, estas ilustraciones permiten conocer valores de R_p , R_{sol} y R_{ct} , considerando que a altas frecuencias se analiza la resistencia del electrolito o películas y a bajas frecuencias del diagrama se analizan los procesos de adsorción, transferencia de carga y difusión; por lo que si en un estudio el objetivo es monitorear el recubrimiento o película protectora de un metal interesa el dato de la resistencia de la película a altas-medias frecuencias, en cambio, si se monitorea el proceso de transferencia de carga el dato importante es el de la resistencia a la transferencia de carga. La Figura 15 muestra el Diagrama de Nyquist donde se muestran los valores de R_{sol} , R_{ct} y R_p .

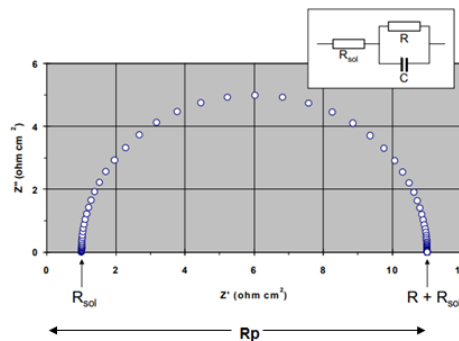


Figura 15. Diagrama de Nyquist ($Z_{imaginaria}$ vs Z_{real} ; de altas a bajas frecuencias) de un proceso de transferencia electrónica sencillo con su respectivo circuito eléctrico equivalente. Nótese que la R_p engloba a R_{sol} y R_{ct} .

Como se puede observar en la Figura 15, para obtener el valor de R_p es necesario conocer tanto el de R_{sol} (encontrado a altas frecuencias) y el de R_{ct} (a bajas frecuencias), obtenidos esos valores, se suman para obtener R_p que puede ser sustituido en la fórmula de V_{corr} para calcular la velocidad. Asimismo, la capacitancia (elemento del circuito que almacena carga eléctrica y asociada a la doble capa electroquímica) puede ser calculada a partir de la frecuencia en la cima de un diagrama de Nyquist mediante la siguiente fórmula:

$$\omega = \frac{1}{C_{dl} * R_p} \quad \text{Ecuación 10}$$

Donde “ ω ” es la velocidad radial, “ C_{dl} ” es la capacitancia de la doble capa, “ R_p ” es la resistencia a la polarización. El circuito mostrado en la Figura 15 es un circuito eléctrico equivalente el cual consta de un componente resistivo de la solución conectada en serie con uno resistivo que corresponde a la resistencia a la transferencia de carga que a su vez está conectado paralelamente con un capacitor de la doble capa.

Es necesario realizar un profundo análisis de lo que sucede en la interfase para proponer un mecanismo de transferencia de corriente desde altas a bajas frecuencias, para realizar eso es necesario contar con un gráfico de Bode. El diagrama de Bode (módulo de impedancia y ángulo de fase contra el logaritmo de la frecuencia) permite observar con más detalle si el sistema estudiado presenta procesos no encontrados en el diagrama de Nyquist. La Figura 16 muestra los dos diagramas de Bode derivados del diagrama de Nyquist mostrado en la Figura 15.

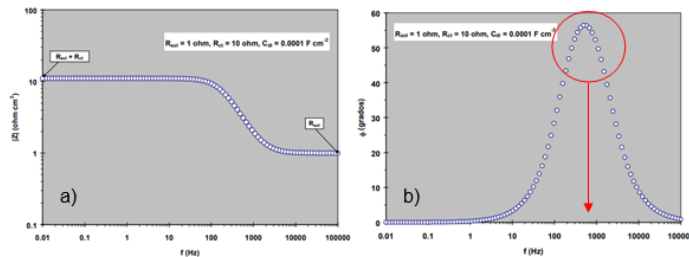


Figura 16. Diagramas de Bode de: a) módulo de impedancia y b) ángulo de fase del proceso de transferencia de carga.

De acuerdo con la Figura 16-a, se puede apreciar que a altas frecuencias se puede obtener el valor de R_{sol} , y a bajas frecuencias la suma de R_{sol} como de R_{ct} ; además, se observa un cambio de pendiente indicando que hay una constante de tiempo en el sistema, que es atribuida al proceso de transferencia de carga.

Por su parte, en la Figura 16-b se puede observar que existe una proyección del ángulo de fase a frecuencias medias, indicando una sola constante de tiempo encerrada en círculo rojo que corresponde a la transferencia de carga y que a su vez se propone en el circuito eléctrico equivalente.

Es necesario tener en cuenta este gráfico ya que al existir más constantes de tiempo indica que en el sistema se están llevando otros procesos, tal es el caso de la difusión de Warburg, la cual se puede percibir en el diagrama de Nyquist que se muestra en la Figura 17-a.

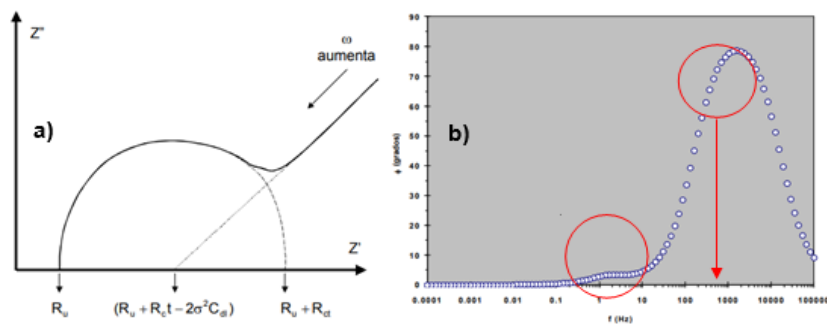


Figura 17. Espectro de impedancia para un proceso de difusión de Warburg, a) diagrama de Nyquist; b) diagrama de Bode.

Se puede observar en la Figura 17-a que a frecuencias medias-bajas no hay un decaimiento del semicírculo sino que hay una proyección (con tendencia al infinito) con aproximadamente 45° , indicando un proceso de difusión de Warburg, si se extrapola la tendencia semicircular de la impedancia al eje de la Z_{real} se obtiene $R_{ct} + R_{sol}$ aunque es preciso señalar que observando un diagrama de Bode de un proceso se verían dos constantes de tiempo a frecuencias medias-bajas para el proceso de R_{ct} y a bajas frecuencias para el de difusión, tal como se muestra en Figura 17-b encerrados en rojo.

Los condensadores se por los iones frente al electrodo y los electrones (o su deficiencia) en el electrodo forman un condensador conocido como “la doble capa electroquímica” (Cottis & Turgoose , 1999). Una constante de tiempo es señalada cuando en un circuito equivalente existe un elemento resistivo conectado en paralelo con uno capacitivo, se pueden apreciar en los diagramas de Bode de ángulo de fase contra la frecuencia ya que son elevaciones del espectro como las señaladas en los graficos anteriormente (Tait, 1994).

1.6 Técnicas microscópicas de alta resolución

1.6.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

El Microscopio electrónico de barrido SEM (*Scanning Electron Microscopy*), en vez de utilizar un haz de luz como punto de enfoque, utiliza un haz de electrones para formar una imagen ampliada de la superficie de un material, está equipado con diversos detectores como: detector de electrones secundarios para imágenes de alta resolución SEI (*Secondary Electron Image*), detector de electrones retrodispersados para imágenes de composición y topografía de la superficie BEI (*Backscattered Electron Image*), y un detector de energía dispersiva EDS (*Energy Dispersive Spectrometer*) que permite coleccionar los rayos X generados por la muestra y realizar diversos análisis semicuantitativos y de distribución de elementos en superficies (Renau-Piqueras & Faura, s. f.).

Este equipo permite la observación y caracterización superficial de sólidos inorgánicos y orgánicos, aunque las aplicaciones del equipo son muy variadas y van desde la industria petroquímica o la metalurgia hasta la medicina forense (Pineda-Aguilar, 2014). Usualmente este tipo de microscopios tiene acoplados el detector de energía dispersiva EDS, donde los rayos X generados debido al bombardeo electrónico previo permiten identificar los elementos presentes en la caracterización, así como establecer su concentración porcentual en dicha muestra capturada (Ipohorski & Bozzano, 2013). En la Figura 18 se muestra un esquema de un MEB.

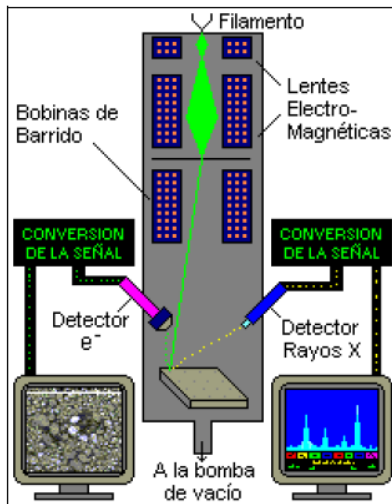


Figura 18. Esquema de un microscopio electrónico de barrido. (Ubero, 2018)

1.7 Hipótesis

El comportamiento electroquímico de un acero inoxidable AISI 304 está influenciado por la presencia de *Pseudomonas stutzeri* RPh9 en condiciones aerobias en el proceso de corrosión y pasivación.

1.8 Objetivos

1.8.1 Objetivo general

Caracterizar electroquímicamente la formación de biopelícula de *Pseudomonas stutzeri* RPh9 sobre un acero inoxidable para establecer su influencia en el proceso de pasivación y corrosión.

1.8.2 Objetivos específicos

- Determinar la formación de una biopelícula de *P. stutzeri* RPh9 sobre acero inoxidable mediante espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS).
- Elucidar un mecanismo de formación de biopelícula y su influencia en el proceso de pasivación y corrosión.

2. Materiales y métodos

2.1 Preparación del medio marino Zobell

Se preparó 1 L de medio marino Zobell utilizando 5 g de Bactopeptona (BD Biosciences®), 1 g de extracto de levadura (MCD LAB®), 750 mL de agua de mar natural extraída en la costa del estado de Baja California y 250 mL de agua destilada. Posteriormente se esterilizó la mezcla a 121 °C por 30 minutos en una autoclave Quadrant® E-015R.

2.2 Preparación de electrodos de trabajo

Se prepararon dos electrodos de trabajo de acero inoxidable AISI 304, un electrodo para la celda electroquímica “control” y el otro para la celda electroquímica con la cepa RPh9 de *Pseudomonas stutzeri*. Cada electrodo se montó en resina epóxica Comex® Kristalizer, con una superficie expuesta con área de 3.75 cm², la superficie fue pulida con lijas TENAZIT® con granulometría de 120, 200, 300, 400, 600, 800, 1200 y 2000 granos por área de superficie. Posteriormente, se procedió al lavado de la superficie con agua destilada y con alcohol etílico a 97° Protec®.

2.3 Montaje de la celda electroquímica

Se esterilizaron las celdas electroquímicas en una autoclave Quadrant® E-015R. Posteriormente, en una campana de flujo laminar Labtech® se esterilizaron bajo rayos UV por 35 minutos, los electrodos de trabajo, de referencia de calomel saturado (ECS) y de platino. Acto seguido, se introdujeron a cada celda 100 mL de medio marino Zobell previamente esterilizado, un agitador magnético y los electrodos de trabajo, referencia de ECS y de platino a cada celda.

Por consiguiente, se inocularon 1.3 mL de un pre-inóculo de *Pseudomonas stutzeri* RPh9 para obtener una densidad óptica (DO₆₀₀) inicial de 0.08 en una celda electroquímica y cada sistema electroquímico fue sellado tanto con un tapón hermético y con papel parafilm marca PARAFILM “M”®. Cabe resaltar que el volumen añadido de pre-cultivo bacteriano resultó del cálculo matemático en

la Ecuación (11) así como de un pre-inóculo preparado un día anterior al montaje de la celda. Cada siete días se realizó un recambio de medio marino Zobell para mantener a la cepa bacteriana en fase exponencial de crecimiento (Zhou *et al.*, 2018)

$$DO_1 * V_1 = DO_2 * V_2 \quad \text{Ecuación 11}$$

Donde DO_1 es la densidad óptica inicial del pre-cultivo, V_1 es el volumen requerido para inocular el medio de cultivo dentro de la celda electroquímica, DO_2 es la densidad óptica inicial en la celda de corrosión y V_2 es el volumen de la celda.

2.4 Evaluaciones electroquímicas

Después del montaje de las celdas electroquímicas, se procedió a las evaluaciones electroquímicas diarias, por 21 días y por triplicado del Potencial de Circuito Abierto (OCP, por sus siglas en inglés) y de Espectroscopia de Impedancia Electroquímica (EIS). El monitoreo se realizó mediante un potenciostato/galvanostato BioLogic® VSP300 USA. El software utilizado para el análisis de datos obtenidos fue EC-Lab® y el orden en que se programaron las evaluaciones fue el siguiente: medición de OCP y evaluación de EIS (por triplicado) en ambas celdas.

2.4.1 Evaluación del potencial de circuito abierto (OCP)

La medición del OCP de cada celda se evaluó en un tiempo de estabilización de 25 minutos respecto al electrodo de calomel saturado (ECS), esto con la finalidad de conocer el potencial de corrosión (E_{corr} vs ECS) entre la especie electroactiva (*P. stutzeri* RPh9) y el electrodo de acero inoxidable, y esta prueba fue previa a cada medición por espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS).

2.4.2 Espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS)

El análisis de la interfase metal/solución (acero/medio marino) se concretó mediante la técnica de EIS. Previamente se analizó el OCP de cada de cada sistema, pasados los 25 minutos de estabilización se programó la EIS en un intervalo de frecuencias de 100,000 Hz a 0.01 Hz con una amplitud de voltaje de

0.01 V y se tomaron 10 puntos por década de frecuencia donde resultaron 70 lecturas (Jialin *et al.*, 2018).

2.5 Análisis de los datos electroquímicos

Con los datos obtenidos de la técnica de OCP se procedió al análisis del potencial de estabilización (o E_{corr} vs ECS) de los dos aceros inoxidables mediante un gráfico de E_{corr} contra el día. Además, se obtuvieron los diagramas de Bode de la técnica de EIS para el análisis de constantes de tiempo, además, los valores de R_{ct} de los diagramas de Nyquist de la técnica de EIS se graficaron respecto al día, con la finalidad de observar la variación de la resistencia a la transferencia.

Asimismo, se obtuvieron los circuitos equivalentes para ambos sistemas mediante un ajuste por χ^2 de los diagramas de Nyquist esto para explicar físicamente los procesos ocurridos en ambos sistemas durante los 21 días de inmersión.

3. Resultados y discusión

3.1 Evaluaciones electroquímicas

3.1.1 Monitoreo del potencial de circuito abierto (OCP)

Uno de los parámetros electroquímicos más sencillos de obtener es el potencial a circuito abierto (OCP, por sus siglas en inglés), ya que conociendo el potencial de corrosión del metal respecto a su medio contribuye como parámetro predictivo para estimar la estabilidad del sistema esto a través de su desplazamiento, en función del tiempo, hacia regiones activas o nobles (Campechano, 2019).

Se midió el potencial de circuito abierto medido en 21 días de inmersión en medio Zobell, tanto para el sistema control como el sistema con *Pseudomonas stutzeri* RPh9. El gráfico se muestra en la Figura 19.

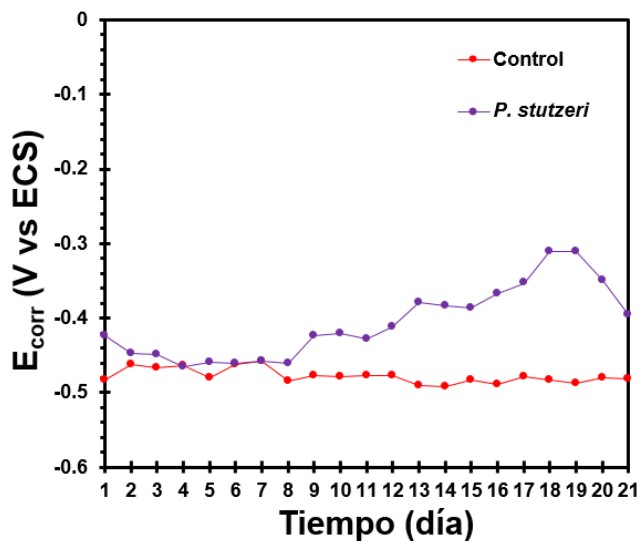


Figura 19. OCP para el sistema control y con *P. stutzeri* Rph9 a 21 días de inmersión.

Para el sistema control (abiótico), el potencial de corrosión mostró escasa fluctuación durante los 21 días de inmersión, esto se sostuvo con un promedio de potencial de estabilización de -0.48 ± 0.01 V (vs. ECS). Sin embargo, el sistema con bacteria (sistema biótico) presentó notable variabilidad de potencial desde el primer al cuarto día, donde los valores de OCP tienden hacia la dirección activa del metal. Lo anterior puede ser atribuido a la naturaleza reductora del

medio debido a la actividad bacteriana y metabólica presente (Starosvetsky *et al.*, 2008). Posteriormente se mantiene un potencial constante de -0.47 ± 0.01 V (vs. ECS) entre los días 5 y 8. No obstante, se observó que la tendencia de potencial de este sistema se revertió entre los días 8 al 19.

El OCP cambió hacia la dirección noble (alejándose de la zona de activación), indicando pasivación sobre la superficie metálica. Dicho proceso ocurre presumiblemente por la formación de una biopelícula de *P. Stutzeri* RPh9 y a la adhesión de productos de corrosión que pasivan el metal (AlAbbas, Bholá, Spear, Olson & Mishra, 2013). Finalmente, en los últimos dos días el proceso retomó valores hacia la zona de activación, es decir, el potencial se volvió más negativo mostrando nuevamente un proceso de disolución metálica.

3.1.2 Evaluación por espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS)

3.1.2.1 EIS-Nyquist sistema control

Los datos obtenidos respecto al análisis interfacial mediante EIS para el sistema control (abiótico) se muestran en la Figura 20. Estos diagramas corresponden a los espectros de impedancia o de Nyquist.

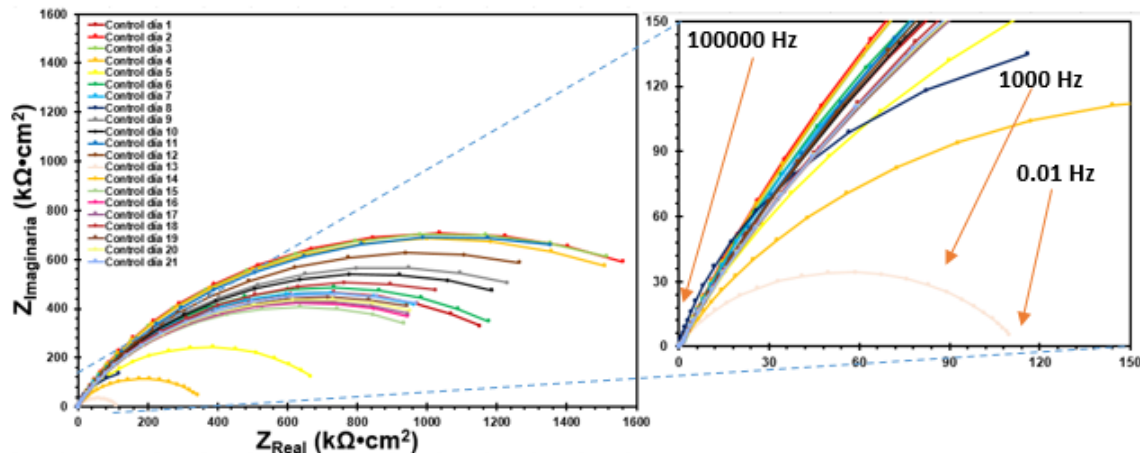


Figura 20. Espectros de Nyquist del sistema control a 21 días de inmersión: a) espectro total, b) espectro magnificado en $150 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$.

La causa por la cual se atribuye que en el sistema abiótico se presente variabilidad en la R_{ct} es debido a la acción electrolítica llevada principalmente por los iones cloruro que provocan picaduras en la superficie metálica, las tendencias

del E_{corr} , así como los valores de R_{ct} variables mostrados en el Cuadro VI se correlacionan con el desarrollo de corrosión por picaduras (Velázquez *et al.*, 2015).

La fractura de la capa pasivante del acero origina un par galvánico cuya zona anódica es la despasivación superficial y el resto de la superficie es la zona catódica (Bastidas & Zapico, 2014). En el interior de la picadura se crean zonas anódicas debido al aumento en concentración de iones que producen disolución metálica que conlleva a una aceleración destructiva de la capa pasiva; como consecuencia, se depositan cationes de hierro en forma de hidróxidos (AlAbbas *et al.*, 2013). La relación entre R_{ct} y el tiempo es mostrada en la Figura 21, el efecto promovido por los iones del medio marino, principalmente cloruro, provocan picaduras sobre la superficie del metal (disminuye R_{ct}) y la repasivación metálica.

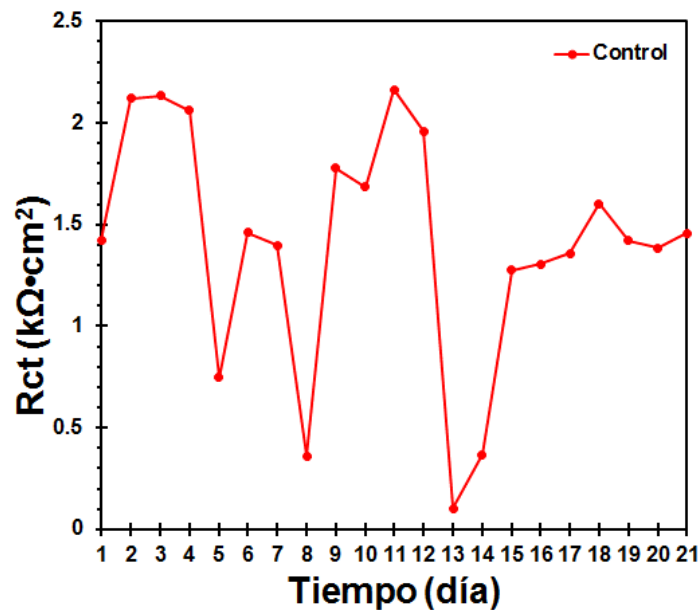


Figura 21. Gráfico de la relación de la resistencia a la transferencia de carga, R_{ct} con respecto al tiempo para el sistema control (medio abiótico).

3.1.2.2 EIS-Nyquist sistema con *Pseudomonas stutzeri* RPh9

Los datos conseguidos respecto al análisis interfacial mediante EIS del sistema con *P. stutzeri* RPh9 (medio biótico) se muestran en la Figura 22. Estos diagramas corresponden a los espectros de impedancia o de Nyquist.

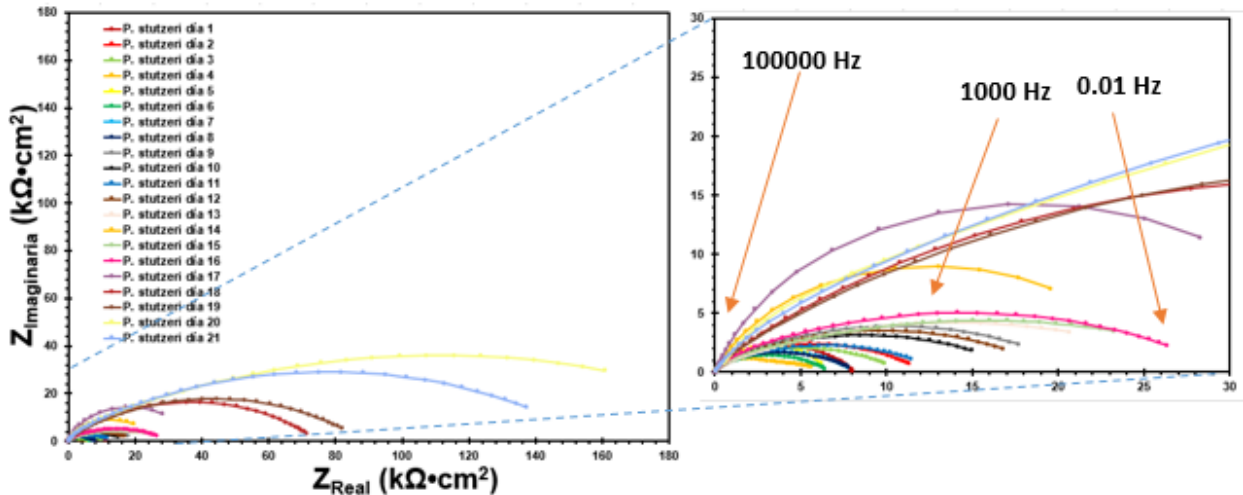


Figura 22. Espectros de Nyquist para el sistema con *P. stutzeri* RPh9 a 21 días de inmersión: a) espectro total, b) espectro magnificado a $30 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$.

En el sistema con *P. stutzeri* RPh9 se puede observar que a medida que el tiempo de inmersión aumenta los espectros de impedancias elevan su valor, a excepción de los primeros dos y el último día, donde se presentó disminución del valor de la R_{ct} . El semicírculo con mayor diámetro fue el correspondiente al día 20, cuyo valor es $221.33 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$. El aumento del valor de R_{ct} , que es mostrado en el Cuadro VII así como en la Figura 23, es atribuido principalmente a la posible formación de biopelículas de *P. stutzeri* RPh9 sobre la superficie metálica. Ciertas zonas de la superficie al estar cubiertas por estos consorcios microbianos provocan que la resistencia superficial del metal se eleve (Xu *et al.*, 2017).

La formación de biopelícula de *P. stutzeri* RPh9 perduró 20 días de inmersión en el medio marino, a juzgar por el aumento del valor de R_{ct} (ver Figura 26). Esta etapa de formación consistió en una barrera de transferencia de masa tanto para el oxígeno disuelto así como los iones agresivos del medio marino (Zhou *et al.*, 2018).

Posteriormente a la formación del consorcio, la biopelícula consumió electrones de las zonas anódicas del metal, estas partículas fueron liberadas por la oxidación del hierro elemental en la superficie del cupón sin la protección de una capa de pasivación debido a la escasez local de oxígeno disuelto, que fue consumido por la biopelícula de la capa superior (Zhou *et al.*, 2018; (Yuan *et al.*, 2008). Este efecto se observa en la Figura 23 como una disminución de R_{ct} en el día 21, lo que sugiere que la transferencia de carga entre la biopelícula y la superficie del cupón aumentó (Usher, Kaksonen, Cole & Marney, 2014).

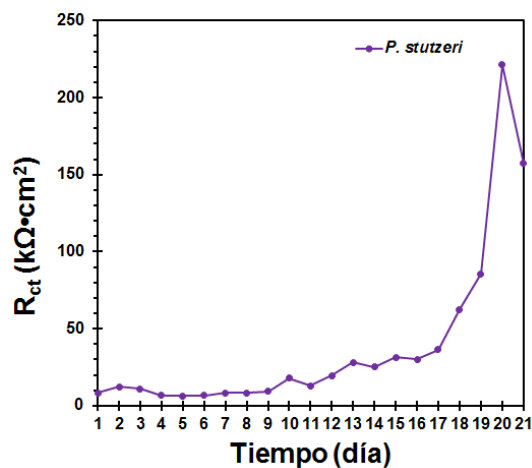


Figura 23. Relación R_{ct} contra tiempo para el sistema con *P. stutzeri* RPh9 (medio biótico).

3.1.2.3 EIS-Bode sistema control y con *Pseudomonas stutzeri* RPh9

Respecto a los datos obtenidos mediante los parámetros de Bode, en la Figura 24 se observan los resultados tanto para el sistema control y con *P. stutzeri* RPh9 respectivamente.

El sistema control mostró que a altas frecuencias los valores de la resistencia de la solución (R_{sol}) para todos los tiempos de inmersión fueron similares (ver Figura 24-a). Además, a bajas frecuencias el módulo de impedancia ($|Z|$) presentó valores bastante altos y variados, verificando así los valores de impedancias del diagrama de Nyquist control y los valores de R_{ct} mostrados en la Figura 21.

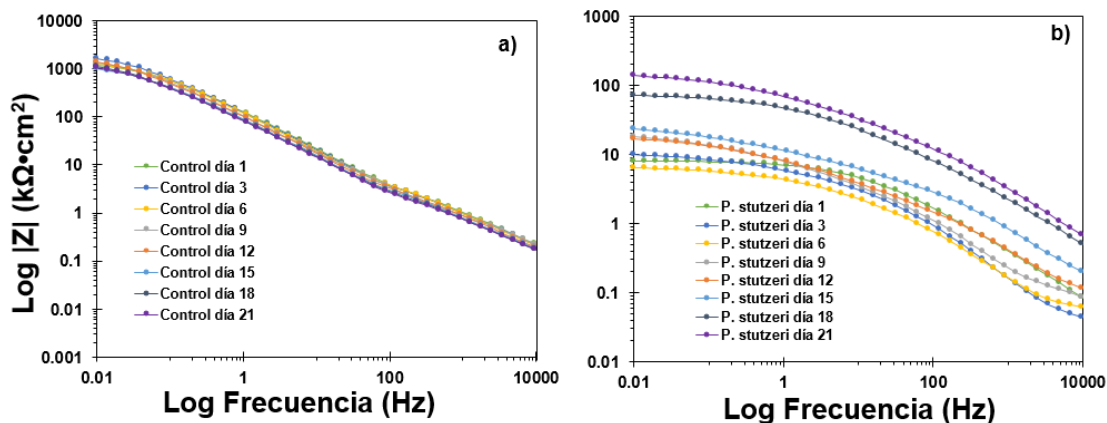


Figura 24. Diagrama de Bode de módulo de impedancia: a) sistema control, b) *P. stutzeri* RPh9.

Sin embargo, el sistema con *P. stutzeri* RPh9 mostró que a altas frecuencias el valor de la resistencia de la solución (R_{sol}) varió respecto al tiempo de inmersión. Esto puede ser atribuido a la modificación de la composición iónica del medio por la actividad microbiana (Jia, Yang, Xu & Gu, 2017; Yuan *et al.*, 2008). Asimismo, a bajas frecuencias se observa que también varió el valor del $|Z|$ atribuido primeramente a la pasivación del metal por microorganismos, esto se comprueba mediante el gráfico de Nyquist de las figuras 22 y 23.

Ahora bien, en la figura 25 se muestran los resultados de Bode del ángulo de fase tanto para el sistema control y *P. stutzeri* RPh9 respectivamente.

El sistema control mostró en los tiempos de inmersión especificados comportamiento similar representado por dos constantes de tiempo. A altas frecuencias se observan ángulos de fase atribuidos a la capa pasivante del acero inoxidable, mientras que a bajas frecuencias se observa el proceso controlado por transferencia de carga.

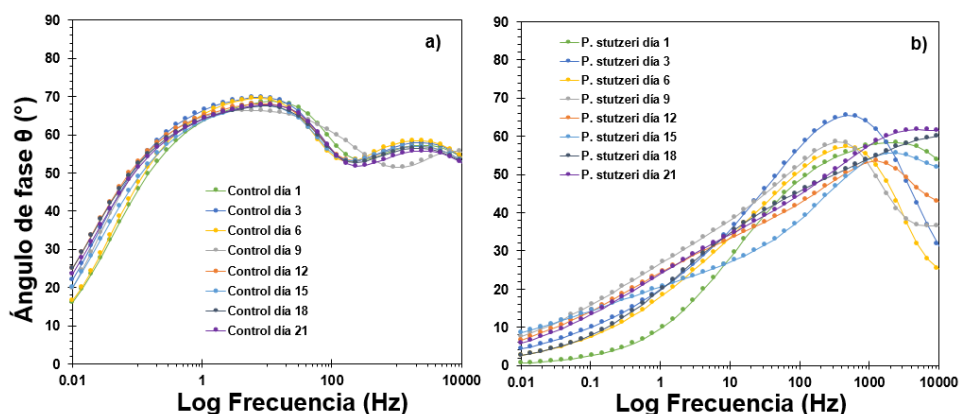


Figura 25. Diagrama de Bode del ángulo de fase: a) sistema control y b) *P. stutzeri* RPh9.

En cambio, el sistema con la cepa RPh9 de *P. stutzeri* demostró que existe un proceso adicional a los mostrados en el control (ver Figura 25-b). Es notable la existencia de comportamientos representados por tres constantes de tiempo: a medianas frecuencias una capa pasivante atribuida presumiblemente a la formación de una biopelícula de *P. stutzeri* RPh9, seguida de la película pasivante de óxido de cromo, y finalmente, a bajas frecuencias, se visualiza el proceso de transferencia de carga del propio acero. En este último se puede observar la variación de este valor respecto al tiempo.

3.1.3 Circuitos eléctricos equivalentes (CEE) por ajuste de EIS

Los datos obtenidos por la técnica de EIS se ajustaron mediante el método de iteración Simplex, con la finalidad de obtener los diagramas de Nyquist y Bode ajustados, así como los circuitos eléctricos equivalentes (CEE, previamente propuestos) y sus respectivos valores cuantitativos.

3.1.3.1 CEE del sistema control

Para el sistema control (abiótico), en el Cuadro VI se ilustran los datos obtenidos mediante el ajuste para la obtención del circuito equivalente que es mostrado en la Figura 26.

Cuadro VI. Parámetros obtenidos mediante método Simplex para la obtención de circuito equivalente del sistema control, $\chi^2= 0.01779$.

Día	R_{sol} ($\Omega \cdot \text{cm}^2$)	Q_{pel}	R_{pel} ($\text{k}\Omega \cdot \text{cm}^2$)	C_{EDL} ($\mu\text{F} \cdot \text{cm}^{-2}$)	R_{ct} ($\text{k}\Omega \cdot \text{cm}^2$)
1	39.3408	0.7157	7.5581	0.1858	1424.64
2	40.5312	0.7266	7.9598	0.2186	2121.6
3	39.4224	0.7218	8.0371	0.2373	2132.64
4	40.1520	0.7237	6.9710	0.2377	2061.6
5	37.8864	0.7073	9.3883	0.2127	747.36
6	38.8704	0.7227	8.9338	0.2548	1458.72
7	39.2016	0.7214	8.7413	0.2438	1397.28
8	38.6331	0.8558	4.3685	0.2368	361.968
9	37.8528	0.7075	6.8409	0.2183	1775.52
10	38.3376	0.7076	7.7424	0.2406	1683.84
11	36.4704	0.7078	6.7622	0.2317	2164.8
12	35.4672	0.7077	7.8000	0.2396	1959.36
13	34.9776	0.6763	9.0384	0.1512	104.262
14	35.3994	0.6960	8.1461	0.1814	368.299
15	31.4230	0.7038	7.6656	0.2679	1274.4
16	31.4227	0.7023	6.5453	0.2729	1304.688
17	30.6564	0.7004	6.7406	0.2706	1357.92
18	30.4416	0.7001	6.7267	0.2733	1603.2
19	30.4128	0.6988	5.5426	0.2988	1419.36
20	30.8256	0.7007	5.4696	0.2900	1385.76
21	30.1200	0.6997	5.5176	0.2950	1456.8

El CEE del sistema control está conformado por cinco elementos: “ R_{sol} ”, resistencia en la solución; “ Q_{pel} ”, capacitancia de película pasiva; “ R_{pel} ”, resistencia de película pasiva; “ C_{EDL} ”, capacitancia de doble capa electroquímica y “ R_{ct} ”, resistencia a la transferencia de carga. Además, en la Figura 26 se observan las tres secciones que identifican físicamente la interfases, estas son:

la solución (medio marino Zobell en condiciones abióticas), la película pasiva (Cr_2O_3) y la interfase metal/solución.

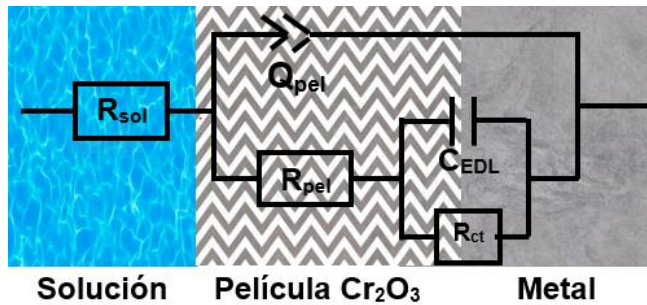
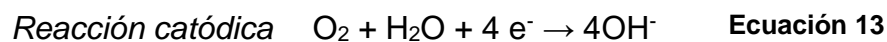
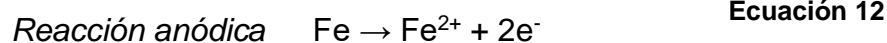


Figura 26. Circuito eléctrico equivalente para el sistema control (medio abiótico).

Cuando el acero inoxidable AISI 304 está inmerso en medio Zobell en condiciones abióticas, está sujeto a corrosión por picaduras llevada a cabo por los iones cloruro presentes en el medio Zobell (Bastidas & Zapico, 2014). Existen varios factores que influyen en la iniciación de la picadura, estos son: la microestructura, la composición y el pretratamiento superficial de la capa pasiva, así como la presencia de iones agresivos como cloruros, bromuros y sulfatos (Kopeliovich, 2015; Álvarez & Galvele, 2010).

Las reacciones electroquímicas que se llevan a cabo desarrollan un mecanismo en donde la especie reductora se encuentra con diversas resistencias que limitan su trayectoria hacia la superficie metálica e impiden tomar los electrones para reducirse. Tanto para el sistema control y con *P. stutzeri* RPh9, las reacciones electroquímicas son las siguientes:



Para ambos sistemas (control y con *P. stutzeri* RPh9) se asume que la reacción de reducción es la del oxígeno disuelto, ya que este gas estuvo presente en cada sistema. Se ha reportado que *P. stutzeri* puede crecer bien bajo condiciones de oxígeno atmosférico (Lalucat *et al.*, 2006).

La especie que se reducirá en la superficie metálica se encontrará a su paso con la primera resistencia que es la del medio electrolítico. Respecto al medio control, esta resistencia es representada por el medio Zobel mar (R_{sol}), en esta sección el oxígeno disuelto difunde desde el seno de la solución hacia la fuente expedidora de electrones (superficie metálica). Posterior a la R_{sol} , el O_2 se encuentra con una capa pasivante metálica de Cr_2O_3 , esta capa también ofrece una resistencia (R_{pel}). La película pasiva señalada en la Figura 29 es de carácter compacto pero no es estable ni homogénea totalmente. Es por eso que se propuso un elemento de fase constante (Q_{pel}) dado que corrige este tipo de irregularidades en la superficie, asimismo representa la capacitancia de esta capa pasiva (Hirschorn *et al.*, 2010).

Finalmente, cuando el O_2 alcanza la superficie metálica, toma los electrones cedidos por la zona catódica y se reduce, dando con ello el proceso por control de transferencia de carga. Sin embargo, en este proceso existe una pequeña resistencia metálica la cual se denomina R_{ct} , además está acompañada por una capacitancia de la doble capa electroquímica. Este último elemento es donde se acumulan cargas positivas y negativas entre la superficie metálica.

Para complementar lo anterior, el proceso de corrosión por picaduras en el sistema control comienza por una despasivación de un área metálica. Una zona del metal se vuelve anódica formándose un pozo, mientras que el resto de la superficie se convierte en cátodo (Kopeliovich, 2015). Cabe resaltar que, para que ocurra este proceso, fue condición la presencia de un defecto superficial en el metal (Salam, Makhoul & Botello, 2018). Posteriormente, sucede un proceso autocatalítico del metal, donde la oxidación metálica origina acidez, lo que provoca un gradiente de concentración y electromigración o difusión de los iones cloruro hacia el pozo (Bastidas y Zapico, 2014; Álvarez y Galvele, 2010).

Por consiguiente, los iones hierro (Fe^{2+}) en el pozo proporcionan un exceso local de carga positiva que atrae iones cloruro (Cl^-) para producir neutralidad de carga o electroneutralidad (Taylor & Marcus, 2015). La picadura contiene una alta

concentración de compuestos metálicos halogenados que al reaccionar con agua pueden inducir la formación de ácido clorhídrico (HCl), hidróxido metálico e iones H^+ , que a la larga evoluciona en hidrógeno gaseoso (H_2) acelerando el proceso de corrosión. Además, en el pozo la concentración de oxígeno es nula y todas las reacciones catódicas solo ocurren en la zona catódica (Kopeliovich, 2015). La constante reacción autocatalítica, sumada con la presencia de iones cloruro, provocan repetidas reactivaciones en la superficie metálica. Lo anterior se ilustra en la Figura 24 como un descenso y aumento repetido de la R_{ct} vs tiempo.

3.1.3.2 CEE del sistema con *Pseudomonas stutzeri* RPh9

Los datos obtenidos del ajuste con la cepa RPh9 de *P. stutzeri* se ilustran en el Cuadro VII.

Cuadro VII. Parámetros obtenidos mediante ajuste por el método Simplex para la obtención del circuito equivalente del sistema con la cepa RPh9 de *P. stutzeri*, $X^2= 0.01401$.

Día	R_{sol} ($\Omega \cdot cm^2$)	C_{biopel} ($\mu \cdot cm^{-2}$)	R_{biopel} ($k\Omega \cdot cm^2$)	Q_{pel}	R_{pel} ($k\Omega \cdot cm^2$)	C_{EDL} ($\mu F \cdot cm^{-2}$)	R_{ct} ($k\Omega \cdot cm^2$)
1	27.8818	0.0798	0.0151	0.6220	8.0813	0.0157	8.3606
2	31.0862	0.1150	8.4E-05	0.4476	2.3841	0.0386	12.1655
3	26.9799	0.1527	0.0551	0.4138	0.0393	0.8413	11.0111
4	26.4419	0.1104	0.0943	0.2861	0.0734	1.1905	6.7181
5	7.0979	4.7674	0.0015	0.7576	0.2067	1.5743	6.3438
6	29.3614	0.1624	0.0210	0.4751	0.0293	0.6189	6.6666
7	34.0691	0.1046	0.0872	0.4610	0.0452	0.7017	8.1731
8	34.4251	0.1063	0.1108	0.4338	0.0572	0.8014	8.2815
9	33.7922	0.0767	0.0586	0.4304	0.2815	0.4374	9.3209
10	34.1878	0.0801	0.0656	0.4158	0.3375	0.3774	17.7505
11	41.4351	0.0778	0.1006	0.4058	0.4996	0.3121	12.8879
12	38.2387	0.0503	0.0667	0.4275	0.4705	0.1033	19.5086
13	40.5332	0.0431	0.1438	0.3609	0.6715	0.0609	28.0243
14	16.1167	1.2351	0.0048	0.7767	0.4049	0.0965	24.9576
15	47.9942	0.0409	0.3339	0.3456	0.1876	0.1283	31.4526
16	48.5559	0.0370	0.2882	0.4051	0.1764	0.0848	29.9145
17	22.1536	0.6153	0.0081	0.8706	0.0003	0.0063	36.3390
18	62.6630	0.0204	0.1712	0.5198	11.9455	0.0019	62.4945
19	70.5671	0.0085	0.2562	0.4815	2.8760	0.0056	85.6893
20	66.7298	0.0148	0.6873	0.3910	4.2662	0.0236	221.3327
21	63.4938	0.0166	0.8585	0.4436	0.0201	0.0139	157.2629

Respecto al sistema con *P. stutzeri* RPh9 (biótico), en la Figura 27 se observan siete elementos, estos son: “ R_{sol} ” resistencia de la solución, “ C_{biopel} ” capacitancia de la biopelícula, “ R_{biopel} ” es la resistencia de la biopelícula, y el resto de los elementos adoptan la misma identidad a los mostrados en la Figura 26. También, en la Figura 27 se observan cuatro secciones que señalan físicamente las divisiones en la interfase metal/solución, estos componentes son: la solución (compuesta de medio Zobell al 75% de agua de mar estéril y *P. stutzeri* RPh9), la película pasiva y la superficie metálica.

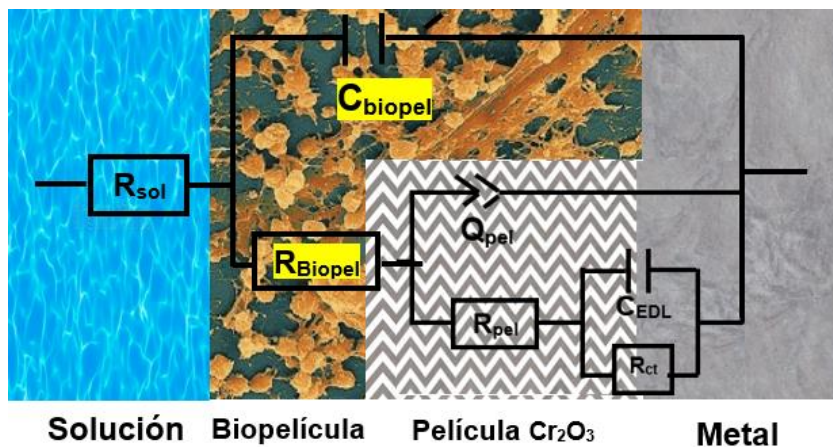


Figura 27. Circuito eléctrico equivalente para el sistema con *P. stutzeri* RPh9 (medio biótico).

De modo similar al sistema control, cuando el acero inoxidable AISI 304 está inmerso en medio Zobell en condiciones bióticas, está sujeto a corrosión inducida microbiológicamente (MIC, por sus siglas en inglés), que ocasiona picaduras (Kakooei, Che, & Ariwahjoedi, 2012; Medina *et al.*, 2009).

Para este sistema, la especie que se reducirá en la superficie metálica primero, luego se encontrará con la resistencia de la solución (R_{sol}), compuesta por el medio Zobell y bacterias planctónicas. Posteriormente, el O_2 se encuentra con un elemento resistivo atribuido a una biopelícula (R_{biopel}) junto con una capacitancia (C_{biopel}). El paso del oxígeno disuelto, O_2 , a través del consorcio microbiano puede variar dependiendo del tamaño y composición puntual de la biopelícula ya que

los microorganismos no tienden a formar consorcios de igual tamaño y proporción (Farinati, 2015).

Dado que se ha propuesto en numerosas investigaciones que *P. stutzeri* forma biopelículas con fronteras difusas o asimétricas (Lalucat *et al.*, 2006), por lo que limita el paso del compuesto oxidante (O_2) en la biopelícula, es que este proceso limitante puede ser el que controle la llegada del O_2 a la superficie del acero inoxidable para reducirse. Esta molécula difundiría a través de los canales acuáticos de la biopelícula hasta poder encontrarse en la zona interfásica, pero a su paso se encontraría tanto con células bacterianas como compuestos de carácter orgánico e inorgánico excretados por *P. stutzeri*, así como los iones de hierro producidos por la reacción anódica (Ramos, 2008).

Todo ese impedimento ocasiona que los valores de la R_{ct} sean considerablemente más bajos a los mostrados por el sistema control, ya que la corrosión ocasionada por los consorcios bacterianos es más crítica que la corrosión por picaduras dada en el sistema control.

Finalmente, cuando el O_2 llega a la interfase metal/solución ocurrirían dos formas de contacto en la zona catódica: la que está libre de biopelículas bacterianas o la que está impedida por el consorcio; esta última es el paso limitante, pues el O_2 difundiría por todo un “paquete” de “obstáculos” antes mencionados para llegar a la zona de reducción. Cuando ocurre la reducción mediante la reacción catódica propuesta en la Ecuación 13, este compuesto se encuentra tanto con la resistencia a la transferencia de carga (R_{ct}) así como la capacitancia de la doble capa electroquímica (C_{EDL}).

Cabe añadir que la morfología de la superficie donde se reduciría el O_2 no es planar en su totalidad debido a las rugosidades superficiales ocasionadas por las bacterias en la pasivación metálica. Respecto a la parte anódica, localmente la picadura estaría compuesta en su interior por iones H^+ , que como menciona Kopeliovich (2015), la zona proporcionaría iones de hierro que directamente

difundirían hacia la película de bacterias, pero también directamente hacia el seno de la solución, pues las biopelículas no cubren en su totalidad la superficie metálica (Farinati, 2015).

Desde la perspectiva bacteriana, la interfase biopelícula/metal no tiene la misma composición química que la interfase biopelícula/solución debido a que la aireación no es la misma (Farinati, 2015; Jamal y Andleeb, 2015). Las bacterias adicionadas sobre la superficie metálica están en condiciones anaeróbicas, es decir, no hay presencia de O_2 en esa zona y el metabolismo está obligado a la utilización de componentes inorgánicos para su reducción. Se propone que iones Fe^{2+} son los últimos aceptores electrónicos, por lo que el metabolismo es oxidante del hierro.

Hay que mencionar que la arquitectura de una biopelícula está basada en diversas condiciones hidrodinámicas, de concentración de nutrientes, motilidad bacteriana, comunicación celular, presencia de exopolisacáridos (EPS) y proteínas en la biopelícula (Flemming & Wingender, 2018). La formación de una biopelícula es un proceso muy complejo, en el cual los microorganismos se transforman del modo planctónico al sésil (Okada *et al.*, 2005). También, la formación de biopelículas depende de la expresión de genes específicos que guían al establecimiento de la biopelícula (Farinati, 2015; Okada, 2005).

El proceso comienza con la adherencia a una superficie inerte o viva, formación de microcolonia, formación tridimensional de la estructura del consorcio, la formación de biopelículas, maduración y desprendimiento celular (ver Figura 28) (Flemming y Wingender, 2018; Jamal y Andleeb, 2015).

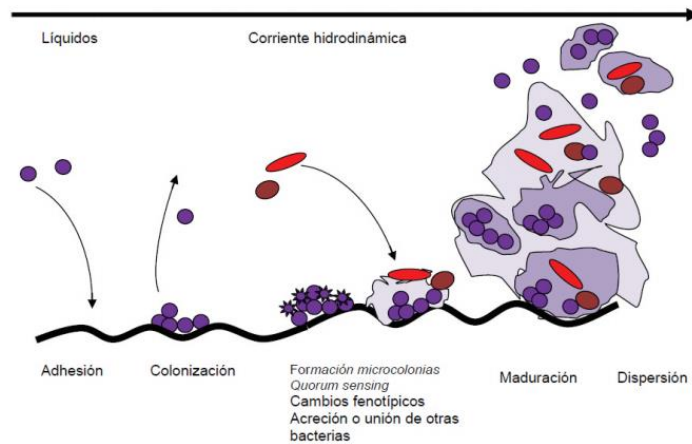


Figura 28. Mecanismo de formación de una biopelícula bacteriana. (Farinati, 2015)

Para la formación de biopelículas en superficie sólida, la interfase líquida puede proporcionar un entorno ideal para que microorganismos formen biopelículas. La presencia de estructuras locomotoras en superficies celulares tales como: flagelos, pilis, fimbrias, proteínas o polisacáridos, proporcionan una ventaja en la formación de biopelículas en una comunidad bacteriana mixta (Donlan & Costerton, 2002).

Posteriormente procede la formación de microcolonias, la multiplicación de bacterias en la biopelícula comienza con señales químicas, es decir, el mecanismo genético de producción de exopolisacáridos y se activan las divisiones celulares que tienen lugar en las EPS (Jamal y Andleeb, 2015). Acto seguido, tiene lugar la expresión de ciertos genes relacionados a este fenómeno, genes necesarios para la producción de EPS, que dan soporte y actividad al consorcio, esta estructura da formación de canales de agua para transporte de nutrientes (Jamal y Andleeb, 2015). Se ha propuesto que esos canales de agua son sistemas circulatorios, distribuyendo diferentes nutrientes y la eliminación de materiales de desecho de las comunidades bacterianas (Farinati, 2015).

Por último, acontece la dispersión de células, ocurre por el desprendimiento de células nuevas o por dispersión de agregados debido a efectos de flujo, específicamente, las enzimas causan la digestión de alginato (ácido D-manúrico

y ácido L-gulurónico, expolisacárido de adherencia a superficies) (Jamal y Andleeb, 2015).

Se ha sugerido que el proceso de formación de biopelículas está controlado por compuestos reguladores denominados, en conjunto, “*quorum sensing*” (Farinati, 2015). Es un mecanismo de regulación dependiente de la acumulación, en el medio ambiente, de una molécula señal autoinductora que permite a las bacterias establecerse densamente o formar consorcios microbianos.

Se ha encontrado que en bacterias Gram positivas esas sustancias autoinductoras son péptidos como el RIP (RNA III Inhibiting Peptide) mientras que en Gram negativas es la acilhomoserina lactona (Farinati, 2015; Gov *et al.*, 2001). La morfología de una biopelícula es parecida a la de un bosque microbiano cuya fase interna está compuesta de canales de entrada y salida de fluidos EPS y agua los cuales fungen como canalizadores (ver Figura 29).

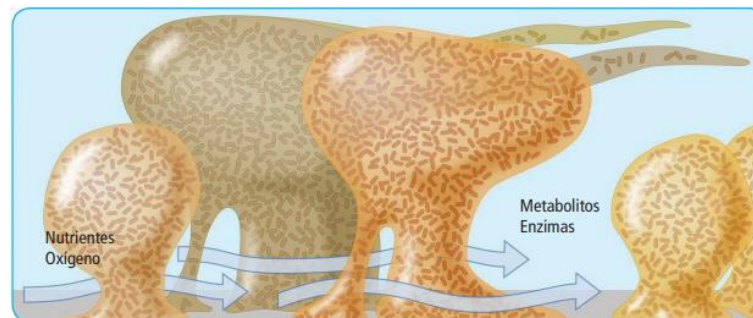


Figura 29. Perspectiva lateral de una biopelícula bacteriana donde se aprecian los canales de flujo de EPS, agua y nutrientes. (Farinati, 2015)

4. Conclusiones

La resistencia a la corrosión expuesta por el sistema control o abiótico presentó variabilidad en los valores de impedancia atribuidos a la actividad de corrosión del acero inoxidable provocada por el medio electrolítico, concretamente, el medio de agua de mar Zobell principalmente atribuido a los iones agresivos cloruro, que son generadores de picaduras.

Respecto al sistema biótico con *Pseudomonas stutzeri* RPh9, la resistencia a la corrosión del acero inoxidable expuesto a este microorganismo medido mediante EIS, aumentó a medida que el tiempo de inmersión aumentaba.

El incremento de resistencia a la corrosión del acero inoxidable, en presencia de *Pseudomonas stutzeri* RPh9 se atribuye a la formación de una biopelícula sobre la superficie del metal.

La formación de biopelícula de la cepa RPh9 de *P. stutzeri* propició un ambiente de protección en ciertos lapsos de tiempo. Sin embargo, posteriormente, existió una disminución de la resistencia a la corrosión medida por EIS, a la actividad organocatalítica de la biopelícula sobre el metal.

5. Recomendaciones

Para proyectos consecuentes a este trabajo de investigación se propone estudiar y analizar mediante microscopía electrónica de barrido y de epi-fluorescencia la superficie metálica en medio abiótico y biótico. Estos análisis superficiales con técnicas avanzadas permitirán verificar los hallazgos electroquímicos. Además, se propone que se realicen más evaluaciones electroquímicas de corrosión como polarizaciones lineales en cada día de inmersión y una polarización potenciodinámica al final del tiempo de inmersión acordado para analizar tanto el potencial y corriente de corrosión, las pendientes anódicas y catódicas y la velocidad de corrosión. También se propone medir el pH cuando se realicen los recambios de medio para analizar la acidez del medio así como el potencial a un tiempo dado.

6. Plan de difusión

El presente trabajo se expuso en modalidad de cartel dentro del marco de actividades del Primer Congreso Internacional de Ciencias Químico Biológicas en el Instituto de Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, en la Figura 30 se muestra el cartel y en la Figura 31 se muestra la constancia de participación.

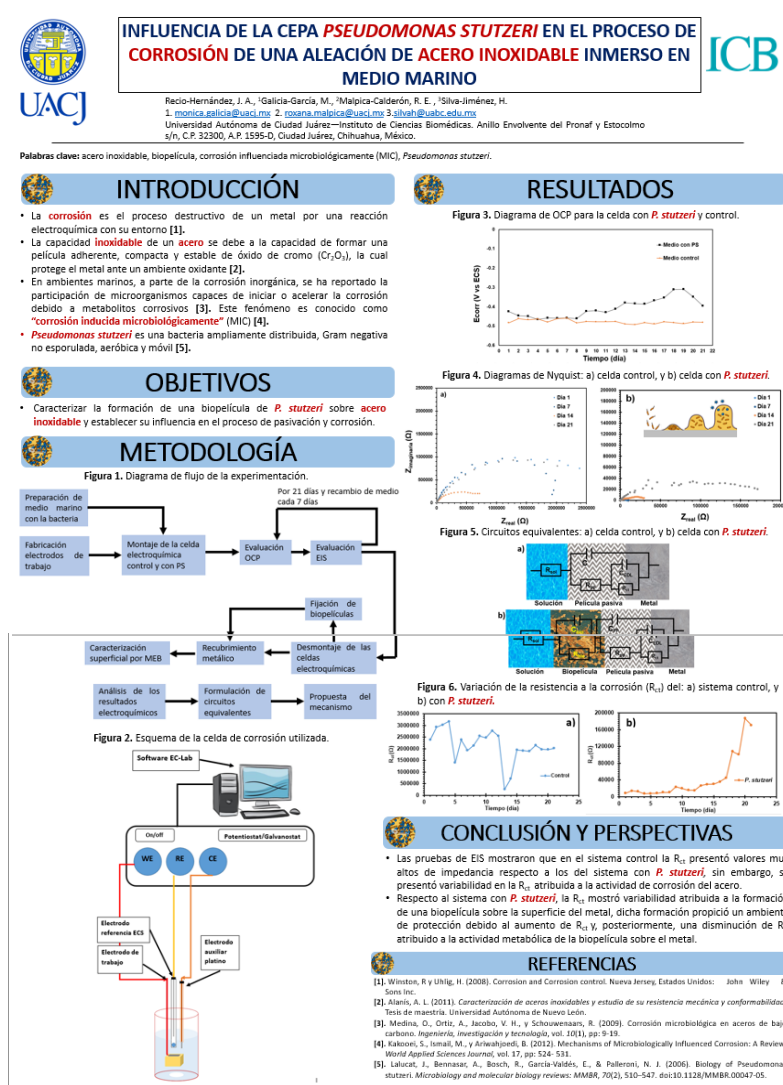


Figura 30. Trabajo presentado en el Primer Congreso Internacional de Ciencias Químico-Biológicas en noviembre de 2019, modalidad cartel.



Figura 31. Constancia del trabajo presentado en el Primer Congreso Internacional de Ciencias Químico-Biológicas en noviembre de 2019, modalidad cartel.

LITERATURA CITADA

- AlAbbas, F., Bholá, R., Spear, J., Olson, D., & Mishra, B. (2013). Electrochemical Characterization of Microbiologically Influenced Corrosion on Linepipe Steel Exposed to Facultative Anaerobic *Desulfovibrio spp.* *Int. Journal of Electrochemical Science*, vol. 8, pp: 859-871.
- Alanís, S. A. (2011). *Caracterización de aceros inoxidables y estudio de su resistencia mecánica y conformabilidad*. Tesis de maestría, Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica: Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Álvarez, M., & Galvele, J. (2010). *Pitting Corrosion*. En M. Álvarez, & J. Galvele, Shreir's Corrosion (págs. 772-800). Oxford, UK: Elsevier.
- Andrade, M. (1991). *Corrosión y protección metálicas 2da. Edición*. Madrid, España: CSIC.
- Askeland, D., Fulay, P., & Wright, W. (2012). *Ciencia e Ingeniería de Materiales*. México D.F. : Cenage Learning.
- ASM International. (2000). *Chapter 1 Introduction to Stainless Steels*. Obtenido de ASM International org: https://www.asminternational.org/documents/10192/1849770/06940G_Chapter_1.pdf/53f29213-5dd6-4499-9959-841477b385b9
- Azeredo, J., Azevedo, N., Briandet , R., Cerca, N., Coenye , T., Costa, A. R., & Sternberg, C. (2016). Critical review on biofilm methods. *Critical Reviews in Microbiology*, pp: 313-351.
- BASi. (s.f). Open Circuit Potential vs. Time. Obtenido de: BASi Better Data Driving Better Decisions: https://www.basinc.com/manuals/EC_epsilon/Techniques/CPot/ocp
- Bastidas, D., & Zapico, C. (2014). Comportamiento frente a la corrosión de armaduras de acero inoxidable dúplex. *Industria Química*, pp: 42-48.
- Bilurbina, L., Liesa , F., & Iribarren , J. (2003). *Corrosión y Protección*. Barcelona, España: Ediciones UPC .
- BSSA. (2018). Chemical compositions of AISI (ASTM/ASME) and UNS austenitic stainless steel grades. Obtenido de British Stainless Steel Association: <https://www.bssa.org.uk/topics.php?article=183>

- Burgos, R. E., Bruera, F., Ares, A., & Méndez, C. (2015). Pasividad en solución de fosfato de aceros inoxidable solidificados unidireccionalmente. *Matéria (Rio de Janeiro)*, pp: 588-596.
- Callister, W. (2012). *Materials Science and Engineering*. New York, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Campechano, C. (2019). *Análisis electroquímico del mecanismo de corrosión de bronce cuaternario. influencia de pátinas artificiales en condiciones atmosféricas*. Tesis de maestría, Maestría en Ingeniería de Corrosión: Universidad Veracruzana .
- Carmezim, M., Simoes, A., Montemor, M., & Da Cunha, M. (2005). Capacitance behaviour of passive films on ferritic and austenitic stainless steel. *Corrosion Science*, pp: 581-591.
- Castrillón , L. E., Palma , A., & Desgarennes , M. (2013). Biopelículas fúngicas . *Dermatol Rev Mex*, pp: 350-361.
- Cerdán, C. (2013). *Caracterización de la pasividad del acero inoxidable UNS N08031 en ácido fosfórico contaminado mediante técnicas electroquímicas*. Tesis de doctorado, Ingeniería y producción Industrial: Universidad Politécnica de Valencia .
- Chang, R., & Goldsby , K. (2013). *Química* . México D.F: McGraw Hill.
- Cottis, R., & Turgoose , S. (1999). *Analysis of Electrochemical Impedance Spectroscopy Data*. En R. Cottis, & S. Turgoose, *Electrochemical Impedance and Noise* (págs. 35-45). Houston, USA: Syrett B.C Series Editor .
- Custodio, O. M. (2006). *Análisis del deterioro por corrosión microbiana en un acero de bajo carbono*. Tesis de maestría, Facultad de Ingeniería: Universidad Nacional Autónoma de México.
- De Turrís, A., Romero, M., Papavinasam, S., & Ocando, L. (2013). Efecto sinérgico de las bacterias sulfato-reductoras y el CO₂ en agua de producción sobre la corrosión del acero al carbono. *INTERCIENCIA*, vol. 38(3), 209-214.
- Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology*, vol. 15, pp: 167-193.

- Dubiel, M., Hsu, C., Chien, C., Mansfeld, F., & Newman, D. (2002). Microbial iron respiration can protect steel from corrosion. *Appl. Environ. Microbiol.*, pp: 1440-1445.
- Else, T., Pantle, C., & Amy, P. (2003). Boundaries for biofilm formation: humidity and temperature. *Appl. Environ. Microbiol.*, pp: 5006-5010.
- Farinati, A. E. (2015). Biopelículas. Obtenido de Britania Lab: <http://www.laensenadacorp.com/documentos/ApunteVI-BIOPELICULAS.pdf>
- Fernández, F. L. (2009). Eduinnova. Obtenido de Eduinnova: <http://www.eduinnova.es/monografias09/Nov09/Corrosion.pdf>
- Flemming, H. C., & Wingender, J. (2010). The Biofilm Matrix. *Nature Reviews Microbiology*, pp: 623-633.
- Flores, J., Patiño-Carachure, C., Alfonso, I., Rodríguez, J., & Rosas, G. (2012). Study of sulphate-reducing bacteria corrosion in the weld joint for API X-70 steel. *Revista de Metalurgia*, vol. 48(5), 325-332.
- Fontana, M. (1987). Corrosion Engineering. Singapur: McGraw Hill.
- Galván, R. (2004). *Estudio de la influencia del flujo turbulento sobre la corrosión de un acero al carbono en medios acuoso que contiene H₂S disueltos (amargos)*. Tesis de doctorado, Facultad de Química: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Galván, R. (2019). Introducción al fenómeno de corrosión. Veracruz, México.
- Gov, Y., Bitler, A., Dell-Acqua, G., Torres, J., & Balaban, N. (2001). RNAIII inhibiting peptide (RIP), a global inhibitor of *Staphylococcus aureus* pathogenesis: structure and function analysis. *Peptides*, vol. 22, pp: 1609-1620.
- Hirschorn, B., Orazem, M., Tribollet, B., Vivier, V., Frateur, I., & Musiani, M. (2010). Constant-Phase-Element Behavior Caused by Resistivity Distributions in Films. *Journal of The Electrochemical Society*, vol. 157(12), pp: 452-457.
- Ibarra, M., Núñez, E., & Huerta, J. (2010). Manual de aceros inoxidables. Cerrillos, Chile: 2M Impresoras Ltda.
- Ipohorski, M., & Bozzano, P. (2013). Microscopía Electrónica de Barrido en la Caracterización de Materiales. *Ciencia e Investigación*, vol. 63(3), pp: 43-53.

- Jamal, M., Tasneem, U., Hussain, T., & Andleeb, S. (2015). Bacterial Biofilm: Its Composition, Formation and Role in Human Infections. *Research & Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology*, pp: 1-14.
- Jia, R., Yang, D., Xu, D., & Gu, T. (2017). Anaerobic Corrosion of 304 Stainless Steel Caused by the *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm. *Frontiers in Microbiology*, vol. 8, pp: 1-9.
- Jialin , L., Ru , J., Zhou, E., Zhao, Y., Wenwen, D., Xu, D., & Tingyue, G. (2018). Antimicrobial Cu-bearing 2205 duplex stainless steel against MIC by nitrate reducing *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 132, pp: 132-138.
- Jiménez, J. A. (2015). Introducción al fenómeno de corrosión: tipos, factores que influyen y control para la protección de materiales (Nota técnica). *Tecnología en Marcha*, pp: 127-136.
- Jones, D. (1996). *Principles and Prevention of Corrosion Second Edition*. New Jersey, USA: Prentice Hall.
- Kakooei, S., Che, M., & Ariwahjoedi, B. (2012). Mechanisms of Microbiologically Influenced Corrosion: A Review. *World Applied Sciences Journal*, vol. 17(4), pp: 524-531.
- Kopeliovich, D. (2015). Pitting Corrosion. Obtenido de SubsTech: https://www.substech.com/dokuwiki/doku.php?id=pitting_corrosion
- Lalucat, J., Bannasar, A., Bosh, R., García-Valdés, E., & Palleroni, N. (2006). Biology of *Pseudomonas stutzeri*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol. 7(2), pp: 510-547.
- Langill, T. (2006). American Galvanizers Association. Obtenido de Engineering Ulowa: http://user.engineering.uiowa.edu/~swan/courses/53086/corrosion_protection.pdf
- Leffler, B. (1996). Stainless steels and their properties. *AvestaPolarit AB*, pp: 1-45.
- Lewandowski, Z., & Beyenal, H. (2007). *Fundamentals of Biofilm Research*. Boca Raton, USA: Taylor and Francis Group.
- Marchal, R., Chaussepied, B., & Warzymoda, M. (2001). Effect of ferrous ion availability on growth of a corroding sulphate-reducing bacterium. *Int. Biodeterior Biodegrad.* vol. 47, pp: 121-131.

- Meas, Y., López, W., Rodríguez, P., Ávila, J., & Genescá, J. (1991). Tres métodos para evaluar una velocidad de corrosión. *Ingeniería Hidráulica en México*, pp: 21-35.
- Medina, Ó., Ortiz, A., Jacobo, V., & Schouwenars, R. (2009). Corrosión microbiológica en aceros de bajo carbono. *RIIIT*, pp: 9-19.
- Mendoza, J., Durán, R., & Genescá, J. (2012). Espectroscopia de Impedancia Electroquímica en Corrosion. Obtenido de Facultad de Química UNAM: <http://depa.fquim.unam.mx/labcorr/libro/Manual-EIS-IMP-UNAM.PDF>
- Millholland, C. (2014). Webinar: XPS Simplified – Understanding Metal Surfaces and Oxides. Obtenido de ThermoFisher Scientific : <https://www.thermofisher.com/blog/metals/webinar-xps-simplified-understanding-metal-surfaces-and-oxides/>
- MIPSA. (s.f.). ¿Cómo se designan los aceros inoxidable? Obtenido de MIPSA: <https://www.mipsa.com.mx/dotnetnuke/Sabias-que/Clasificacion-del-acero-inoxidable>
- Miranda, E., Bethencourt, M., Botana, F., Cano, M., Sánchez-Amaya, J., Corzo, A., & Olliver, B. (2006). Biocorrosion of carbon steel alloys by an hydrogenotrophic sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio Capillatus* isolated from a Mexican oil field separator. *Corrosion Science*, vol. 48, pp: 2417-2431.
- NACE-International. (2016). Inspectioneering. Obtenido de Inspectioneering News: <https://inspectioneering.com/news/2016-03-08/5202/nace-study-estimates-global-cost-of-corrosion-at-25-trillion-ann>
- Nazar, J. (2007). Bacterial Biofilms. *Revista de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello*, pp: 161-172.
- Okada, M., Sato, I., Jeong-Cho, S., Iwata, H., Nishio, T., Dubnau, D., & Sakagami, Y. (2005). Structure of the *Bacillus subtilis* quorum-sensing peptide pheromone ComX. *Nature Chemical Biology*, vol. 1(1), pp: 23-24.
- Pineda Aguilar, N. (2014). Microscopía Electrónica de Barrido. Obtenido de cimav: <http://mty.cimav.edu.mx/sem/>
- Pulido, M. (2000). Control microbiológico en sistemas de recuperación secundaria. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias Químicas: Universidad Nacional Autónoma de México.

- Ramos, O. A. (2008). Identificación y evaluación de la capacidad de corrosión de una bacteria esporulada aislada de un gasoducto. Tesis de maestría, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas: Instituto Politécnico Nacional.
- Reece, C. (s. f.). An Introduction to Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS). Obtenido de JLab: https://www.jlab.org/conferences/tfsrf/Thursday/Th2_1-EIS%20intro%20Reece.pdf
- Renau-Piqueras, J., & Faura, M. (s. f.). Principios básicos del Microscopio Electrónico de Barrido.
Obtenido de Core: <https://core.ac.uk/download/pdf/61904764.pdf>
- Riskin, J., & Khentov , A. (2019). *Corrosion behaviour Investigations of Traditional Structural Metallic Materials in Electrochemical Plant Media, Taking into account Attack by Leakage Currents*. En J. Riskin, & A. Khentov, *Electrocorrosion and Protection of Metals* (págs. 213-223). USA: Elsevier.
- Roberge, P. (2008). *Corrosion Engineering Principles and Practice*. United States of America: McGraw Hill .
- Rodríguez-Gómez, F. J. (2016). Técnicas electroquímicas de corriente directa para la medición de la velocidad de corrosión . Obtenido de Facultad de Química UNAM: <http://depa.fquim.unam.mx/labcorr/libro/LPR.PDF>
- Sahrani, F., Nawawi, M., Usup, G., & Ahmad, D. (2014). Open circuit potential and electrochemical impedance spectroscopy studies on stainless steel corrosion by marine sulfate-reducing bacteria. *Malaysian Applied Biology*, vol. 43 , pp: 141-150.
- Salam , A., Makhlof , H., & Botello, M. (2018). *Chapter 1: Failure of the metallic structures due to microbiologically induced corrosion and the techniques for protection*. En A. Salam, H. Makhlof, & M. Botello, *Handbook of Materials Failure Analysis* (págs. 1-18). Edinburg, USA: Butterworth Heineman.
- Sanderson, A., Leid , J., & Hunsaker , D. (2006). Bacterial Biofilms on the Sinus Mucosa of Human Subjects With Chronic Rhinosinusitis. *The Laryngoscope*, pp: 1121-1126.
- Sevilla, B. (2014). Volumen de la producción mundial de acero inoxidable de 2005 a 2014.
Obtenido de Statista: <https://es.statista.com/estadisticas/634609/volumen-de-acero-inoxidable-producido-a-nivel-mundial/>

- Sidorovas, L., Cedeño, K., & Rodríguez, M. (2014). Evaluación del comportamiento mecánico y microestructural del acero inoxidable AISI 201 expuesto a corrosión acelerada. *Revista de Ingeniería UC*, vol. 21(1), pp: 50-61.
- SIU Grupo de Corrosión y Protección. (2004). Corrosión Industrial. Sociedad Colombiana de Ingeniería Química, pp: 131-137.
- Starosvetsky, J., Starosvetsky, D., Pokroy, B., Hilel, T., & Armon, R. (2008). Electrochemical behaviour of stainless steels in media containing iron-oxidizing bacteria (IOB) by corrosion process modeling. *Corrosion Science*, pp: 540-547.
- Tait, S. (1994). An Introduction to Electrochemical Corrosion Testing for Practicing Engineers and Scientists. Racine, USA: PairODOcs Publications .
- Taylor, C., & Marcus, P. (2015). *Molecular Modeling of Corrosion Processes: Scientific Development and Engineering Applications*. Houston, USA: Wiley.
- Ubero, N. (2018). Técnicas de Microscopía aplicada a las Ciencias Forenses. Obtenido de Open Course Ware (OCW), Máster en Ciencias Forenses, Universidad de Murcia: https://www.um.es/innova/OCW/Microscop%C3%ADa-aplicada-a-las-ciencias-forenses/microscopia/material_clase/presentacion_4.pdf
- Uhlig, H., & Winston, R. (2008). *Definition and Importance of Corrosion*. En H. Uhlig, & R. Winston, Corrosion and Corrosion Control (págs. 1-6). Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons Inc. .
- UPC. (2012). Universidad Politécnica de Cataluña. Obtenido de UPC: https://portal.camins.upc.edu/materials_guia/250109/2012/Clase%20Corrosi%C3%B3n.pdf%3Bjsessionid=5733EEAE962EEAD03DC9876FA54D09AD
- Usher, K., Kaksonen, A., Cole, I., & Marney, D. (2014). Critical review: Microbially influenced corrosion of buried carbon steel pipes. *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 93, pp: 84-106.
- Van-Delinder, L. (1984). *Corrosion Basics: An Introduction*. Houston, Estados Unidos: NACE .
- Velázquez, J. C., Barenca, G., Teran, G., Hernández, E., Capula, S., Hernández, J., & Herrera, H. (2015). Estimation of metal loss by corrosion process in

heat exchangers applied to hydrotreating systems. *International Journal of Electrochemical Science*, pp: 7929-7940.

Videla, H. (1996). *Manual of Biocorrosion*. Boca Raton, Estados Unidos: CRC Press.

Videla, H., & Herrera, L. (2005). Microbiologically influenced Corrosion: looking to the future. *International Microbiology*, pp: 169-180.

Viloria, E., Márquez, K., Estrada, J., & Licona, W. (2009). Corrosión Microbiológica. Jornada Técnico-Científica y Cultural del Programa de Ingeniería Química. Bucaramanga, Colombia: Tecnología y Ciencia .

Walter Mexico Surface Technologies. (s.f). Pasivación . Obtenido de El mundo del acero inoxidable: https://www.walter.com/es_MX/surfox/pasivacion

Xu, D., Zhou, E., Zhao, Y., Huabing, L., Zhiyong, L., Dawei, Z., & Ke, Y. (2017). Enhanced resistance of 2205 Cu-bearing duplex stainless steel towards microbiologically influenced corrosion by marine aerobic *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Journal of Materials Science & Technology*, vol. 34(8), 1325-1336.

Yuan, S., Pehkonen, O., Ting, Y., Kang, E., & Neoh, K. (2008). Corrosion Behavior of Type 304 Stainless Steel in a Simulated Seawater-Based Medium in the Presence and Absence of Aerobic *Pseudomonas NCIMB 2021* Bacteria. *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 47, 3008-3020.

Zhou, E., Huabing, L., Chuntian, Y., Jianjun, W., Dake, X., Dawei, Z., & Tingyue, G. (2018). Accelerated corrosion of 2304 duplex stainless steel by marine *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 127, pp: 1-9.