

Título del Proyecto de Investigación  
al que corresponde el Reporte Técnico:

Influencia de la actividad biogénica en la corrosión de aleaciones  
de Aluminio utilizando técnicas electroquímicas

Tipo de financiamiento

Sin financiamiento

Fecha de Inicio: 04/12/2019  
Fecha de Término: 30/11/2021

Tipo de Reporte

Parcial

Final

Autor (es) del reporte técnico:

Mónica Galicia García

# Influencia de la actividad biogénica en la corrosión de aleaciones de Aluminio utilizando técnicas electroquímicas

## Resumen

Este reporte técnico considera fundamentalmente la investigación de la **corrosión biogénica**, es decir la corrosión provocada por microorganismos sobre superficies metálicas y sus aleaciones. La corrosión biogénica pretendía ser monitoreada sobre corrosiones de aluminio, sin embargo, se realizaron estudios en una vertiente más. De esta forma, este proyecto de investigación se efectuó en dos condiciones: a) con la cepa *Escherichia coli* sobre aleación de aluminio 6061 en medio marino artificial, y b) con la cepa Rph9 de *Pseudomonas stutzeri* sobre acero inoxidable en medio marino real. El monitoreo del proceso de corrosión y pasivación sobre las superficies metálicas se llevó a cabo mediante la inoculación de dos celdas electroquímicas de tres electrodos, conteniendo para cada caso, una celda control conteniendo únicamente el medio marino, y en la otra celda electroquímica conteniendo la cepa bacteriana en cuestión. Las técnicas electroquímicas empleadas fueron el monitoreo del potencial a circuito abierto, OCP por sus siglas en inglés, y la espectroscopía de impedancia electroquímica, EIE. Para ambas condiciones se realizó análisis superficial avanzado de las muestras, por lo que se obtuvieron imágenes con el microscopio electrónico de barrido. Lo anterior para corroborar visualmente el análisis previo de la estimación de la velocidad de corrosión con la técnica electroquímica de extrapolación de pendientes de Tafel. El estudio de la cepa *E.coli* sobre aluminio se efectuó durante un lapso de 7 días, mientras que la cepa de *P. stutzeri* sobre acero inoxidable tuvo una duración de 30 días.

## **Abstract**

This technical report fundamentally considers the investigation of biogenic corrosion, that is, the corrosion caused by microorganisms on metal surfaces and their alloys, which occurs in two conditions: a) the *Escherichia coli* strain on aluminum alloy 6061 in an artificial marine environment, and b) the Rph9 strain of *Pseudomonas stutzeri* on stainless steel in a real marine environment. The monitoring of the corrosion and passivation process on metallic surfaces was carried out by inoculating two electrochemical cells with three electrodes, containing for each case, a control cell containing only the marine environment, and in the other electrochemical cell containing the strain bacteria in question. The electrochemical techniques used were open circuit potential monitoring, OCP, and electrochemical impedance spectroscopy, EIE. For both conditions, advanced surface analysis of the samples was performed, for which images were obtained with the scanning electron microscope. The foregoing to visually corroborate the previous analysis of the estimation of the corrosion rate with the electrochemical technique of extrapolation of Tafel slopes. The study of the *E. coli* strain on aluminum was carried out for a period of 7 days, while the *P. stutzeri* strain on stainless steel lasted 30 days.

**Palabras clave:** biocorrosión, aluminio, acero inoxidable, *Escherichia coli*, *Pseudomonas stutzeri*, OCP, EIE

### **Usuarios potenciales (del proyecto de investigación)**

Investigadores, estudiantes, y empresas interesadas en verificar influencia de los procesos de corrosión biogénica (biocorrosión) en ambientes marinos.

## **Reconocimientos**

Se agradece a la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez por el uso de sus laboratorios, en especial el laboratorio de electroquímica y al laboratorio del Cuerpo Académico de Biología Celular y Molecular. Se agradece la disponibilidad por el uso del Microscopio Electrónico de Barrido, SEM del CICTA del IIT de UACJ.

## 1. Introducción

Las aleaciones de aluminio tienen cientos de aplicaciones, principalmente en la industria aeronáutica y la industria petrolera en el transporte de hidrocarburos. Estas aleaciones son susceptibles de ser atacadas por microorganismos, generando biocorrosión o la denominada corrosión influenciada por microorganismos (MIC). Los microorganismos forman una biopelícula la cual es la principal causa de problemas técnicos y de pérdidas económicas de diversas industrias (Saravia, 1991). *E. Coli* puede encontrarse en medios marinos ya que, al ser eliminado principalmente por humanos a través de tuberías, llegando muchas de estas a los mares. *E. coli*, junto con otros microorganismos marinos forman una biopelícula en los ductos de tuberías de drenaje, como del transporte de hidrocarburos. Es importante aprender a monitorear el comportamiento que tiene la bacteria y las formaciones de la biopelícula respecto a la aceleración de la corrosión, para así poder tener un control del cómo prevenir la corrosión o retardarla. Al caracterizar el proceso de la corrosión microbiológica en las aleaciones de aluminio, para identificar cuáles factores la propician y cómo es que se va desarrollando este fenómeno, para de esta forma poder proporcionar las variables que tendrían que ser eliminadas, para controlar la MIC.

En este proyecto se evaluó electroquímicamente la influencia de *E. coli* expuesta en un medio marino en el proceso de corrosión de la aleación de aluminio 6061. Además, se evaluar la aleación de aluminio 6061 mediante análisis superficiales de microscopía electrónica de barrido, y se empleará un mecanismo de formación de la biopelícula de *E. coli* y su influencia en el proceso de corrosión del aluminio 6061. Los resultados obtenidos tienen de utilidad para la industria petrolera ya que ayudara a solucionar fallas por corrosión asociadas por microorganismos reduciendo la generación de derrames de hidrocarburos que contaminan los mares afectando el medio ambiente de muchas especies y humanos que vivan cerca. Además de reducir las fugas de los conductos que transportan hidrocarburos, reduciendo así mismo las explosiones que podrían dañar las infraestructuras cercanas.

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 por lo 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.

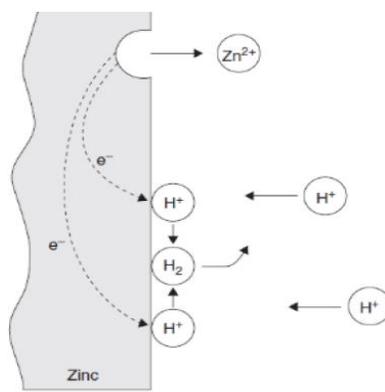
## **2. Planteamiento**

### **2.1 Antecedentes**

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 (Figura 2) (Galván, 2019).

## 2.2.Marco teórico

### 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).

### 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 con el 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).

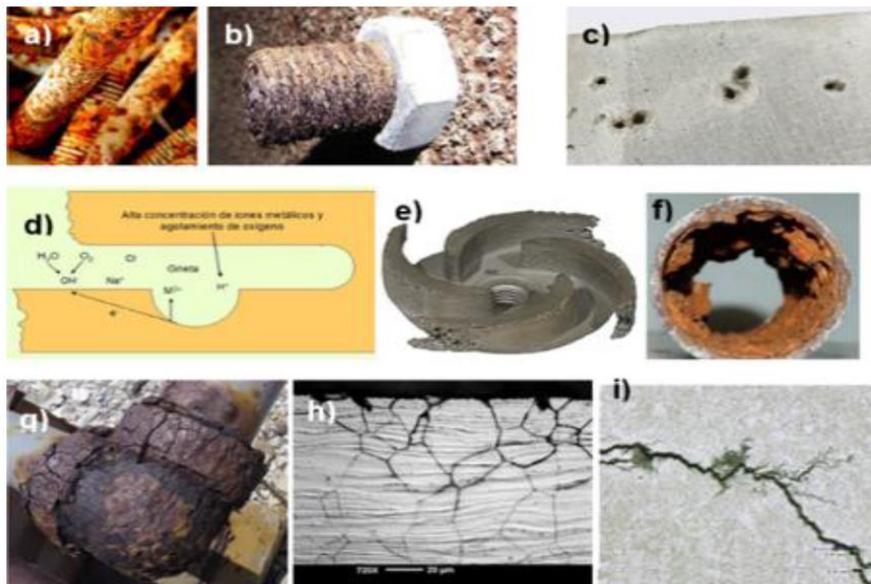


Figura 3. Tipos de corrosión: a) corrosión uniforme; b) corrosión galvánica; c) corrosión por picaduras; d) corrosión por hendiduras; e) corrosión por cavitación; f) corrosión microbiológica; g) corrosión por erosión; h) corrosión intergranular; i) corrosión por tensión.

### Corrosión inducida por microorganismos (MIC), biocorrosión o corrosión biogénica

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 o corrosión biogénica.

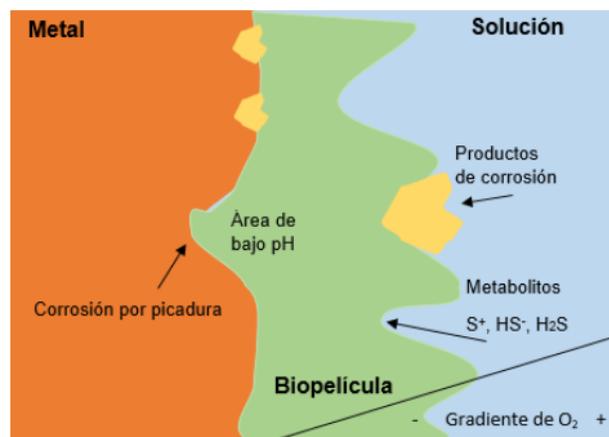


Figura 4. Esquema de biocorrosión de un metal con una biopelícula adherida inmerso en solución.

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).

## 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 inhibitoras 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 microbiológica, de acuerdo con (Medina, Ortíz, Jacobo & Schouwenaars, 2009), se presentan en el

Cuadro I.

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

Género	pH	T (°C)	Requerimiento de O <sub>2</sub>
<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>	-	-	-

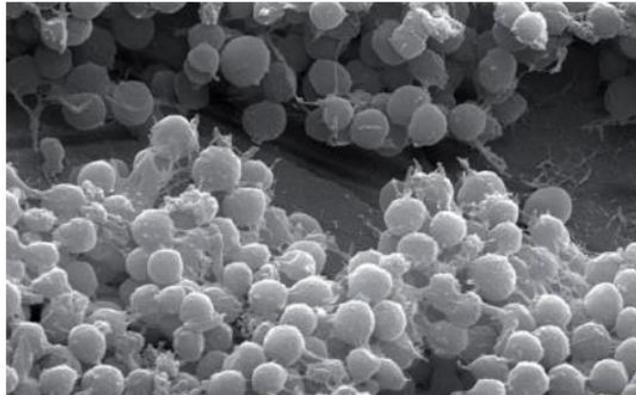
## Tipos de interacción entre el microorganismo y el metal

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).

### **Biopelículas**

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).

## **2.10. Técnicas electroquímicas para el estudio de la corrosión**

Los procesos electroquímicos se encuentran en muchas áreas, tales como las síntesis industriales, los estudios de corrosión, la experimentación fisiológica y la investigación de las baterías, además de las mediciones analíticas (Vassos & Ewing, 1998).

### **2.10.1. Potencial de corrosión y corriente de corrosión**

Cuando un metal se corroe mediante un mecanismo homogéneo la corriente que pasa a través de la zona anódica, corriente de disolución anódica, debe ser igual y de signo contrario a la corriente catódica, es decir  $I_{corr}=I_{and}=I_{cat}$

Puesto que ambas zonas están cortocircuitadas por el mismo metal, la diferencia de potencial será igual a cero, cumpliéndose:

$$0\Delta=\Delta\phi_{cat}-\Delta\phi_{and}+IR$$

### **2.10.2 Potencial de circuito abierto OCP**

En todo proceso corrosivo existen, necesariamente, dos tipos de reacciones electrónicas, unas anódicas y otras catódicas. Dichas reacciones se dan simultáneamente en áreas diferentes de la superficie del metal. Normalmente las reacciones no son reversibles, pues no corresponden a procesos en equilibrio e involucran especies reactivas diferentes. En las áreas anódicas suceden reacciones de disolución u oxidación metálica, generalmente del tipo:



En las áreas catódicas se pueden presentar diferentes reacciones de reducción dependiendo de la naturaleza y la concentración de las especies presentes en el medio, y pueden ser:



### **2.10.3 Polarización, potenciodinámica y pendientes de Tafel. PP**

Existen otras técnicas de estado estacionario, en las que el valor de la señal de corriente continua se va variando de forma escalonada, estudiándose la respuesta eléctrica del sistema en distintos estados de excitación. Estos ensayos reciben el nombre de ensayos cinéticos o dinámicos. Así, dependiendo de que la señal de perturbación sea de potencial o de corriente se habla, respectivamente, de ensayos potenciodinámica o galvadinamicos. Dentro de los ensayos potenciodinámicos, los más empleados son aquellos que se orientan a la determinación de la velocidad de procesos de corrosión uniforme (Vázquez, *et al.*, 2001).

### **2.10.4. Pendientes de Tafel**

La técnica consiste en la polarización en un campo amplio de potenciales, obteniendo las curvas de polarización del (figura 1).

Julios Tafel descubrió, en 1905, que la variación de potencial es una función logarítmica de la densidad de corriente, respondiendo a la siguiente expresión:

$$\eta = a - b \log i \quad (7)$$

Donde  $\eta$  es la polarización aplicada,  $i$  es la intensidad de corriente y  $a$  y  $b$  son dos constantes. Representando las curvas de polarización en coordenadas logarítmicas y extrapolando su parte recta hasta  $E_{\text{corr}}$  podemos determinar la  $i_{\text{corr}}$  por este método.

### **2.10.5. Espectroscopia de impedancia electroquímica**

Se trata de una técnica cuantitativa de corriente alterna que comenzó a aplicarse en los años 70, permitiendo cubrir un rango de frecuencias muy amplio. Se basa en la aplicación de una perturbación sinusoidal de pequeña amplitud sobre el potencial electrodo de trabajo. Es una técnica no destructiva cuando se trabaja en condiciones de equilibrio, muy sensible a pequeños cambios en el sistema, permitiendo la caracterización de sus propiedades. Un has frecuencia aplicada se recoge de corriente de onda sinusoidal, diferente al aplicado. Al conocerse el potencial aplicado y la respuesta de corriente del sistema, se puede determinar la impedancia que presenta.

### **3. Objetivos**

#### **Objetivo General.**

Evaluar electroquímicamente la influencia de *E. Coli* expuesta en medio marino sobre Aluminio 6061 y *Pseudomonas stutzeri* RPh9 sobre acero inoxidable para establecer su influencia en el proceso de pasivación y corrosión

#### **Objetivo Específicos**

- Determinar la formación de una biopelícula de *P. stutzeri* RPh9 y *E. coli* sobre acero inoxidable y Aluminio 6061 respectivamente mediante OCP, Pendientes de Tafel, espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS), SEM.
- Elucidar un mecanismo de formación de biopelícula y su influencia en el proceso de pasivación y corrosión, para ambas cepas bacterianas y las aleaciones respectivas.

### **4. Metodología**

#### **Preparación del medio de cultivo**

Se preparó un medio de Luria Bertani (LB) (DIBICO) en 2 cajas Petri (BD), se agregó 0.6 g del medio de cultivo, 30 mL de agua destilada junto con 0.45 g de medio agar nutritivo (DIBICO) en un matraz de Erlenmeyer (PYREX) de 250 mL. Se mezcló en agitación constante, para posteriormente pasarlo a la autoclave (QUADRANE, E-015R) para su esterilización, se adiciono 15mL del caldo LB (DIBICO) a cada caja. Las cajas se esterilización con luz ultravioleta en la campana de flujo laminar (SAFEAIRE, 54L924) durante 20 minutos y se almacenaron a una temperatura de 4°C, en un refrigerador (IEM).

Se preparó también un medio de cultivo LB (DIBICO) en caldo con una concentración de 1g de agar (DIBICO) en 50 mL de agua en un matraz Erlenmeyer (PYREX) de 150 mL y se agito constantemente, para así llevarlo a la autoclave (QUADRANE, E-015R) durante 45 minutos y se almaceno a 4°C en un refrigerador (IEM).

#### **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.

### **Incorporación al medio**

La cepa de *E. coli* se aisló con un asa bacteriana en un medio de cultivo solido LB (DIBICO) y se incubó a 37 °C durante 24 horas en una incubadora (GENERAL PUYPOSE INCUBATORY, SHEL LAB)

Posteriormente con el uso de un asa bacteriana previamente esterilizada se tomó parte del medio solido LB (DIBICO) y se añadió en los tubos falcón (CORNING) de LB (DIBICO) líquido antes preparado. Se dejaron incubar durante 12 horas a 37 °C a 150 rpm en la incubadora (GENERAL PURPOSE INCUBATOR, SHEL LAB).

### **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 cm<sup>2</sup>, 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®.

### **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 y cada sistema electroquímicos fue sellado tanto con un tapón hermético y con papel parafilm marca PARAFILM “M”®.

Donde DO1 es la densidad óptica inicial del pre-cultivo, V1 es el volumen requerido para inocular el medio de cultivo dentro de la celda electroquímica, DO2 es la densidad óptica inicial en la celda de corrosión y V2 es el volumen de la celda.

### **Evaluaciones electroquímicas**

Después del montaje de las celdas electroquímicas, se procedió a las evaluaciones electroquímicas diarias ( por 21 días para *P. Stutzeri* y 7 días para *E. coli* ) 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.

### **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 (Ecorr 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).

### **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).

### **Análisis de los datos electroquímicos.**

Con los datos obtenidos de la técnica de OCP se procedió al análisis del potencial de estabilización (o *E<sub>corr</sub>* vs ECS) de los dos aceros inoxidable mediante un gráfico de *E<sub>corr</sub>* 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<sub>ct</sub>* 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  $\chi^2$  de los diagramas de Nyquist esto para explicar físicamente los procesos ocurridos en ambos sistemas durante los 21 días de inmersión.

### **Análisis superficial de los electrodos por microscopia electrónica de barrido**

Preparación de muestra biológica sobre el electrodo mediante deshidratación para observación en microscopio electrónico de barrido (SEM).

Bajo la campana de flujo laminar (SAFEAIRE, 54L924) se abrió la celda y se extrajo el electrodo con unas pinzas previamente estériles bañadas en alcohol, se colocó en una caja petri (BD), donde el electrodo se sometió a dos lavados de PBS con la ayuda de una micro pipeta de 1000  $\mu$ L y se tomó 500  $\mu$ L de PBS se cubrió el electrodo, posterior a los dos lavados se cubrió con glutaraldehído, el electrodo se almaceno en un tubo falcón previamente esterilizado en autoclave) y se almaceno durante 24 horas a 4°C en un refrigerador. Transcurridas las 24 horas bajo la campana de flujo laminar y se lavo con PBS y se dejó 5 minutos sobre una caja petri (BD), se decantó y esto se repitió 3 veces. Posteriormente se agregó agua destilada dejando pasar 5 menor a mayor, se cubrió el electrodo de etanol y se dejó reposar 10 minutos para ser decantado y se agregó así la siguiente dilución hasta que se llegó al 100%, posterior a los lavados con etanol (SIGMA) se guardó el electrodo en un tubo falcón (CORNING) y se almaceno en un desecador para así ser llevado al microscopio electrónico de barrido.

## 5. Instituciones, organismos o empresas de los sectores social, público o productivo participantes

ICB-UACJ, IIT-UACJ, Universidad Autónoma de Baja California

## 6. Resultados

### 4.1 Impedancias obtenidas para la celda control y con *E. coli*

En la Figura 8 se observa el diagrama de Nyquist de las impedancias obtenidas en la celda con la bacteria. En la celda con *E. coli* se observa un incremento en el valor de impedancia o resistencia a la corrosión en los días 1 al 3. Sin embargo, en el día 4 y día 5, la impedancia se vuelve a cementar lo que significa que disminuye la velocidad de la corrosión de la aleación de aluminio. En el día 6 es donde se observa a priori, una mayor resistencia a la corrosión y un flujo incipiente formación al final, que debería ser un semicírculo. **Para el séptimo da comienza a generarse corrosión viéndose un aumento de la impedancia.** En la Figura 8 se ven mayores impedancias (corrosión) en comparación en la Figura 6 y 7.

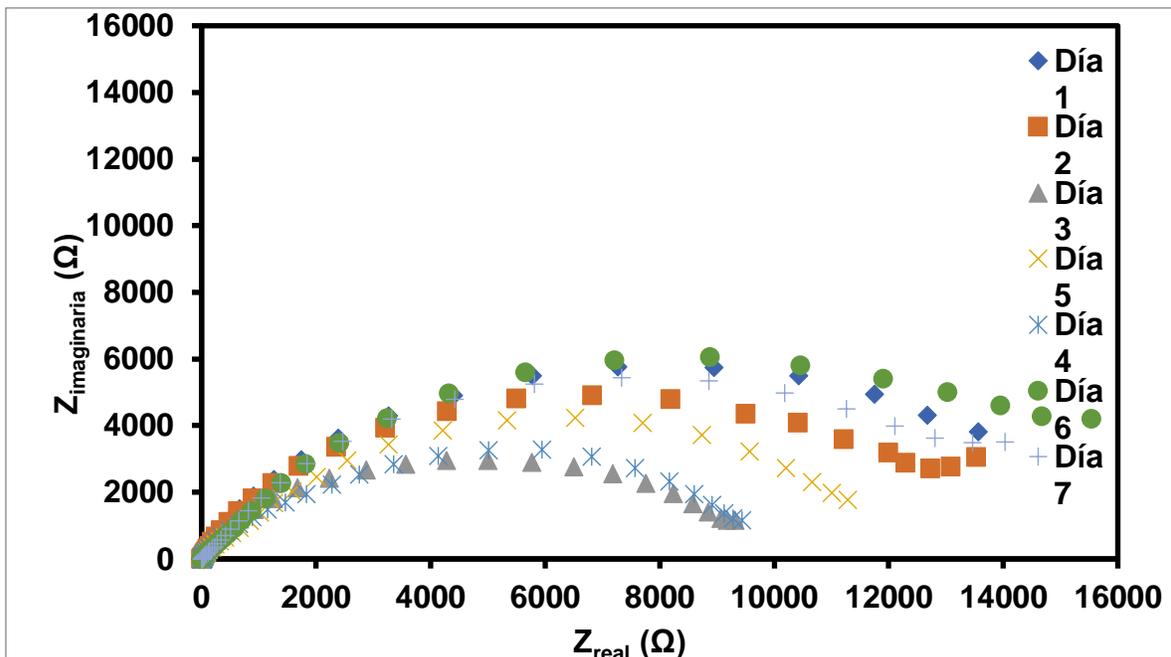


Figura 6. Diagrama de Nyquist generado por la aleación de aluminio 6061 en presencia de *Escherichia coli* en un medio marino artificial durante los 7 días.

### 4.3 Potencial de circuito abierto

Los potenciales presentados por el electrodo de aluminio 6061 en la celda control se muestran en la Figura 11, donde se observa cómo este potencial va descendiendo. El potencial entre más positivo será más resistente a la corrosión, lo que indica que, al inicio la aleación es más resistente a la corrosión. En el segundo día se ve un ligero aumento del potencial lo que indica resistencia a la corrosión, lo que posiblemente se deba a la formación de una capa pasivante que forma el aluminio al exponerse a medios corrosivos. Es conveniente mencionar que esta capa se rompe muy fácilmente con los componentes que generan la corrosión. Por ello ya en los siguientes días este potencial va disminuyendo lo que indica un aumento en la corrosión.

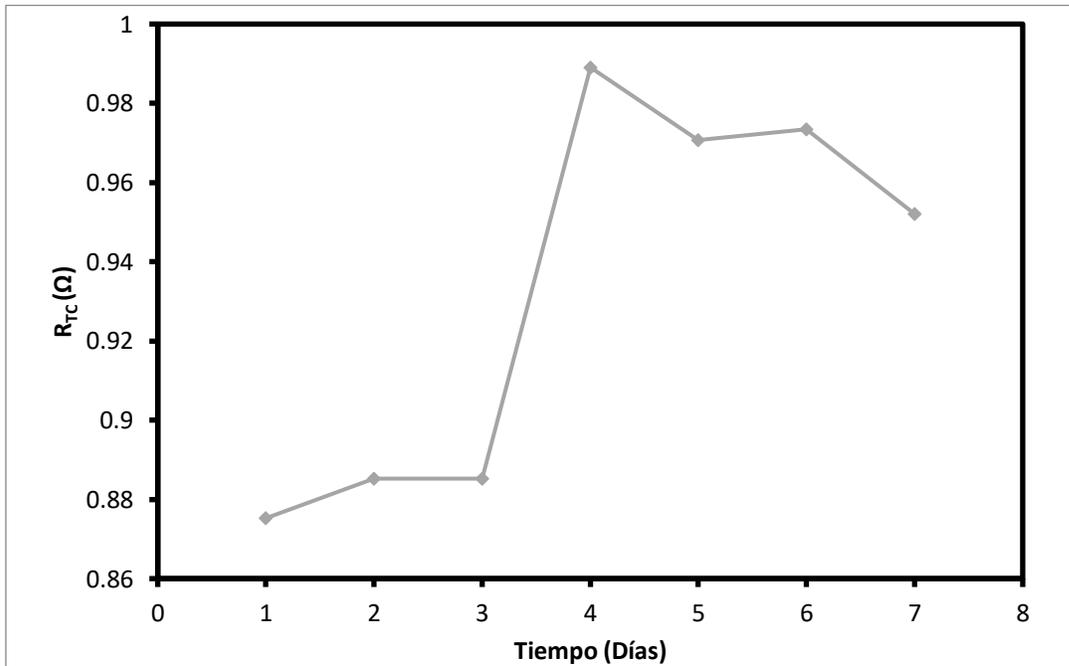


Figura 7. Potencial presentado por la aleación de aluminio 6061 durante los 7 días en la celda con *Escherichia coli*.

En la Figura 13 se ve la comparación de las impedancias presentadas en la celda con *E. coli* y las impedancias presentadas por la celda control, donde se observa una diferencia

en las impedancias desde el primer día donde se ve un aumento de la resistencia mayor que en la celda control observándose una mayor corrosión en esta.

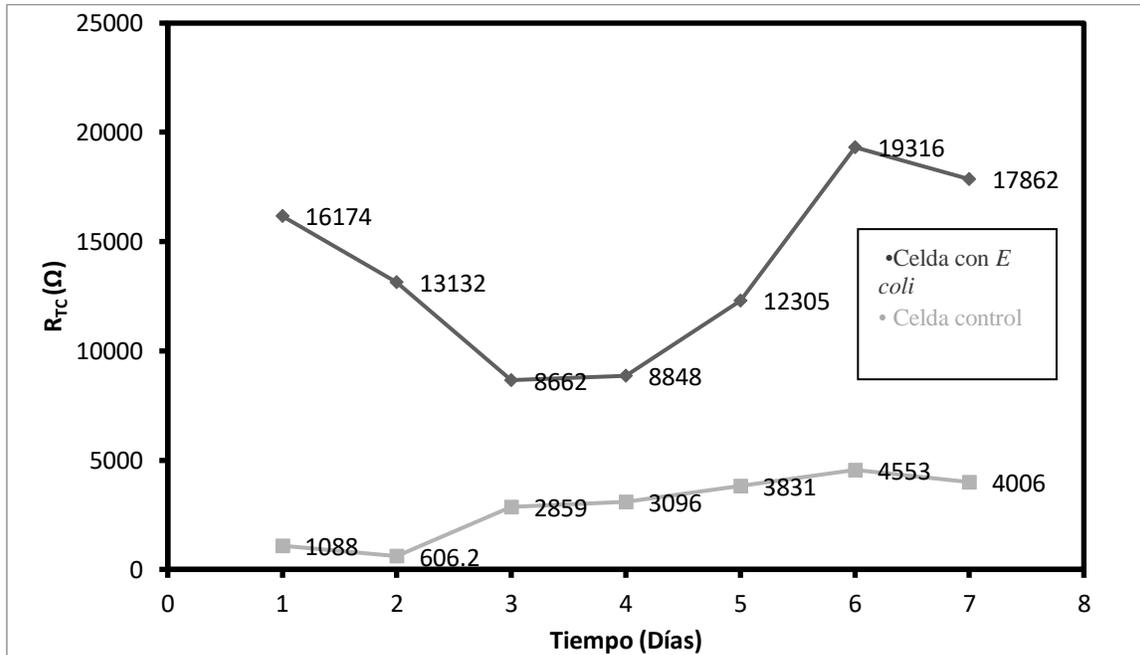
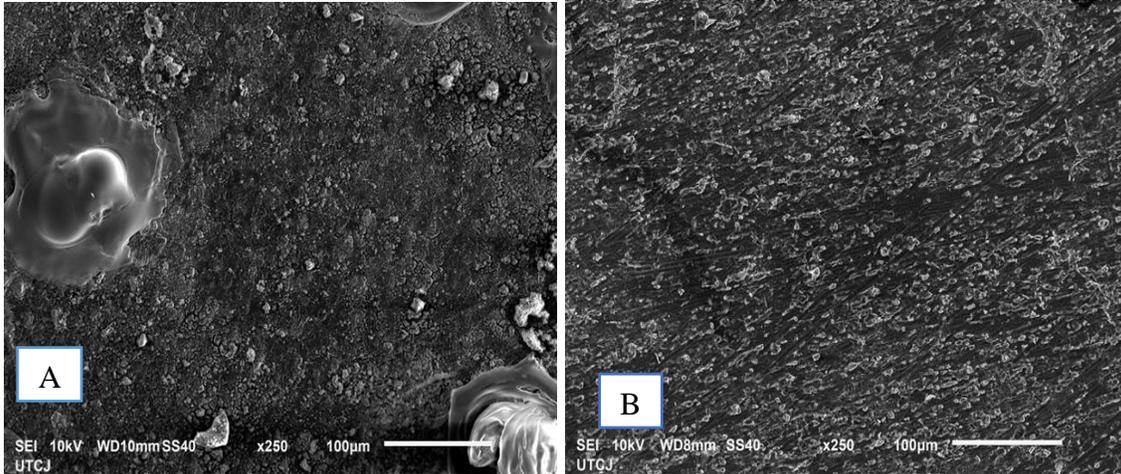
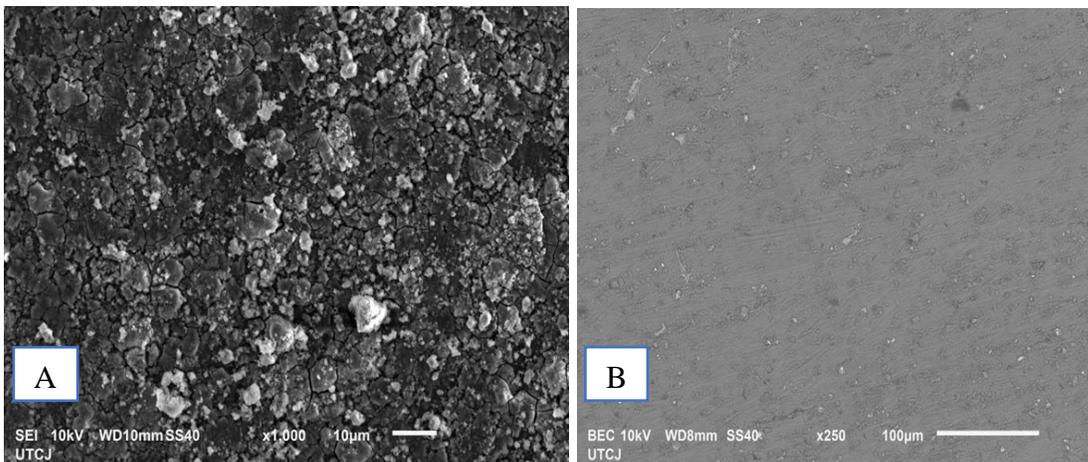


Figura 8. Comparación de las impedancias con respecto a los días de la celda con la bacteria de *E. coli* y la celda control.

En las Figuras 15, 16 y 7 se ve la comparación en el microscopio electrónicos de barrido (SEM) en la 15 se observa a x250, en la 16 a x1000 y en la 17 a x3500, donde en las 3 se observa un mayor deterioro en el metal en el electrodo control (A) y en el electrodo con la *E. coli* se ve un menor deterioro del metal. Ya que en el electrodo sin la bacteria se ve un mayor agrietamiento. Además, como se leyó anteriormente el medio marino es bastante corrosivo además de que genera una capa de salitre en el metal, que son los grumos que se observan en ambos electrodos, solo que en el que no tiene la bacteria hay mayor acumulación del salitre. Estas diferencias se ven en la Figura 16, 16 y 17, donde en la Figura 17 hay un acercamiento mayor al electrodo, por desgracia en ninguna de las 3 imágenes de la celda que contiene la bacteria no se lograron ver bacilos que nos indique el crecimiento bacteriano



*Figura 9. Comparación en el microscopio electrónico de barrido de: A) Electrodo de aluminio 6061 control y B) Electrodo de aluminio 6061 en presencia de E. coli, a x250.*



*Figura 10. Comparación en el microscopio electrónico de barrido de: A) Electrodo de aluminio 6061 control y B) Electrodo de aluminio 6061 en presencia de E. coli, a x1000.*

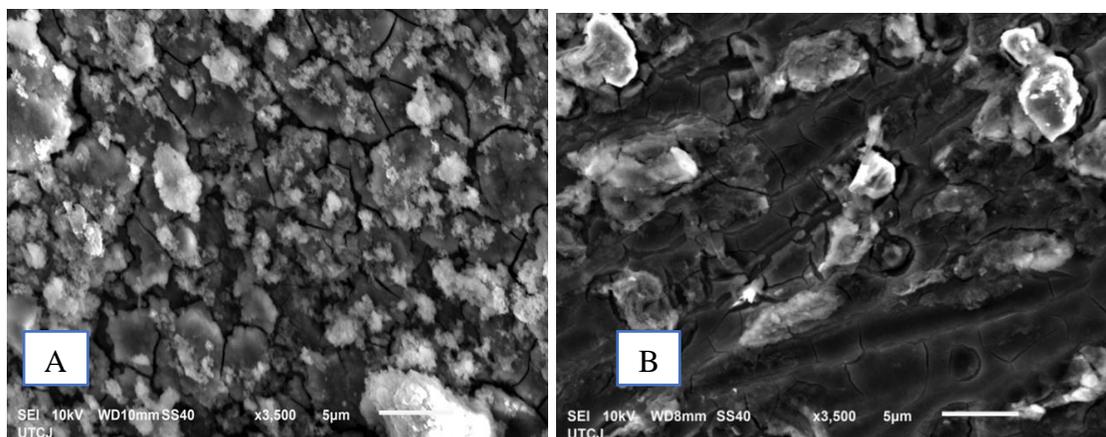


Figura 11. Comparación en el microscopio electrónico de barrido de: A) Electrodo de aluminio 6061 control y B) Electrodo de aluminio 6061 en presencia de *E. coli*, a x3500.

En un estudio realizado en el 2017 se analizó el comportamiento de la corrosión en la aleación de aluminio 6063 en presencia de *E. coli* en un medio marino, en este estudio se varió la concentración de salinidad del agua y de igual forma se comparó la corrosión generada con bacteria y sin bacterio en donde se demostró que a mayor salinidad hay mayor corrosión y que la presencia de *E. coli* genera una mayor corrosión en el metal, este estudio se realizó durante 28 días (Pratikno y Sulistiyaning, 2017).

Conocer el comportamiento de la biopelícula en la interfaz del metal se puede ver alguna forma en que los metabolitos de la bacteria no afecten al metal, ya sea eliminándolo con algún componente o que la bacteria los utilice nuevamente, además de buscar alternativas de alimentación de la bacteria ya que unas usan ciertos elementos de las aleaciones como el Mg que lo utilizan como cofactor para llevar a cabo su metabolismo, y así la bacteria al no usar este elemento no genere una mayor corrosión en el metal.

#### **Monitoreo del potencial de circuito abierto, Open Circuit Potential (OCP) con *Pseudomonas stutzeri*.**

Se midió el potencial de circuito abierto medido en 21 días de inmersión en agua de mar, tanto para el sistema control como el sistema con *Pseudomonas stutzeri*. El gráfico se muestra en la Figura 22.

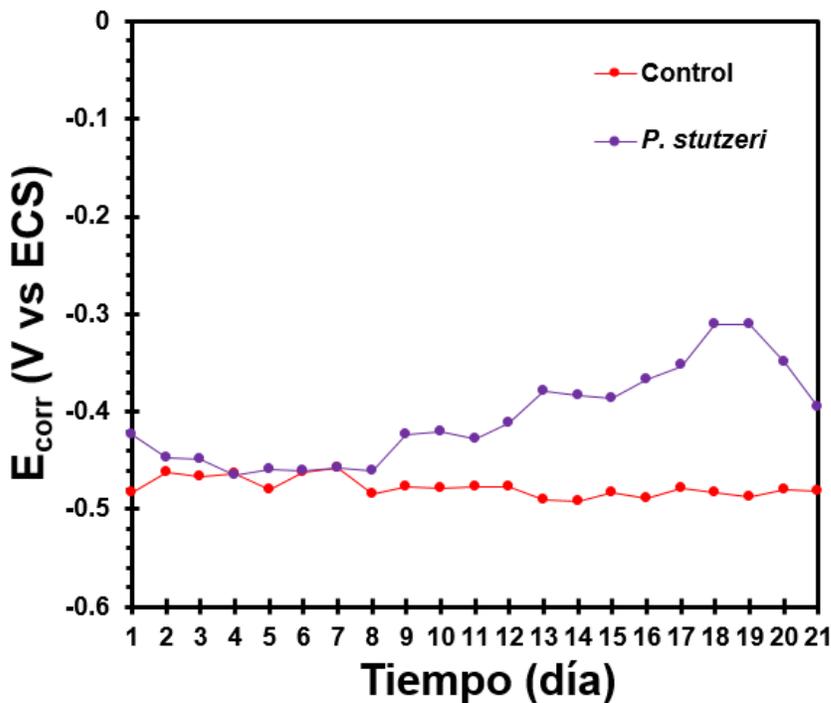


Figura 12. OCP para el sistema control y con *Pseudomonas stutzeri* a 21 días de inmersión.

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  $-0.48 \pm 0.01$  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  $-0.47 \pm 0.01$  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  $E_{\text{corr}}$  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* y a la adhesión de productos de corrosión que pasivan el metal (Al Abas *et al.*, 2013; Molica y Trevis, 1976).

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.

Los datos conseguidos respecto al análisis interfacial mediante EIS del sistema con *P. stutzeri* (medio biótico) se muestran en la Figura 13. Estos diagramas corresponden a los espectros de impedancia o de Nyquist.

En el sistema con *P. stutzeri* 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  $R_{ct}$ , es atribuido principalmente a la formación de biopelículas de *P. stutzeri* 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 (Zhou *et al.*, 2017).

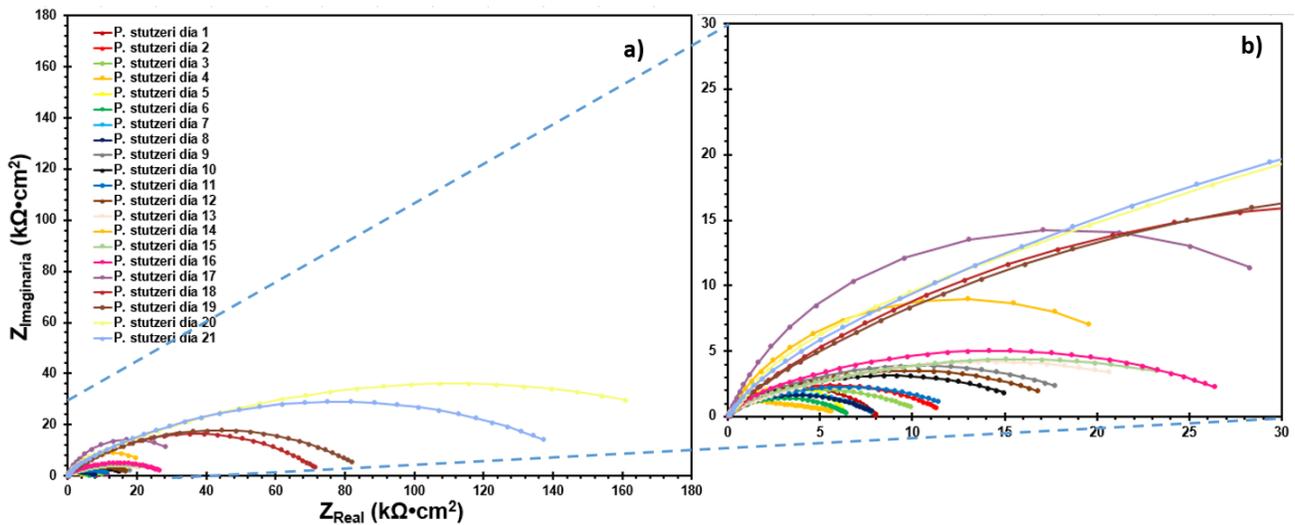


Figura 13. Espectros de Nyquist para el sistema con *P. stutzeri* a 21 días de inmersión:  
 a) espectro total, b) espectro magnificado a  $30 \text{ k}\Omega\cdot\text{cm}^2$ .

La formación de biopelícula de *P. stutzeri* perduró 20 días de inmersión en el medio marino. 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, 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, 2018; Yuan, 2008). Este efecto se observa en la Figura 26 como una disminución de  $R_{\text{ct}}$  en el día 21, lo que sugiere que la transferencia de carga entre la biopelícula y la superficie del cupón aumentó (Usher *et al.*, 2014).

## 7. Productos generados

Artículos de investigación (1), memorias de congreso (2), formación de recursos humanos (2 tesis de licenciatura). Se integrará en los anexos las evidencias.

## 8. Conclusiones

- Los resultados obtenidos en las pruebas de impedancia electroquímica demostraron que durante los primeros 7 días *E. coli.*, a través de una biopelícula, protege a la aleación de Aluminio 6061 contra la corrosión, en comparación con la aleación sin la cepa, ya que al séptimo día comienza a elucidarse una disminución en la resistencia a la transferencia de carga, lo que indicó que comienza a generarse corrosión. Al inicio de los experimentos, la formación de biopelícula sirve como protección de la aleación, pero conforme hay una acumulación de productos del metabolismo (ácidos inorgánicos, ácidos orgánicos) empezó un proceso de corrosión. En el análisis superficial mediante microscopia electrónica de barrido, se observa un mayor ataque de la corrosión en la aleación control que la que estuvo expuesta a la cepa bacteriana.
- 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.

## 9. Contribución e impacto del proyecto

Se generó información novedosa sobre la influencia de estas bacterias como en el proceso de corrosión de estas aleaciones en medio marino. Se obtuvieron datos mecanísticos sobre la incidencia en el proceso de pasivación y /o de corrosión y sobre todo se verificó que la formación de las biopelículas respectivas inciden en

estos procesos. Las tesis de licenciatura obtenidas fueron de gran impacto puesto que se presentaron en trabajos de congresos nacionales y publicación de un artículo científico con los participantes

## **10. Impacto económico, social y/o ambiental en la región**

*Impacto Económico.* La implementación de los resultados obtenidos permiten prevención de corrosión para aleaciones de aluminio y de acero inoxidable, que repercute en ahorros por pérdidas económicas asociadas a la corrosión biogénica. Por lo tanto, ahorro en costos de reparación o reemplazo de piezas o estructuras de aluminio.

*Impacto Social.* Se genera conocimiento sobre cómo diagnosticar problemas de corrosión microbiológica y la creación de biocidas que previenen y controlan este fenómeno y que eviten fugas y derrame de sustancias peligrosas en estructuras de aluminio como en ciertos componentes de aeronaves o en estructuras marinas.

*Impacto Ambiental.* Brindar seguridad y evitando riesgos en las estructuras en cuanto a daños por corrosión biogénica, minimizando las reparaciones a largo plazo, y así obteniendo beneficios tanto económicos como al medio ambiente al evitar el consiguiente derrame de sustancias peligrosas en suelo y agua, que ocurre cuando se afecta la integridad estructural de estructuras de acero.

## **11. Referencias**

Aperador C.W., Rodríguez Z.G. & Franco A.F., (2013) Estimación de la corrosión Intergranular en la aleación de magnesio AZ31B soldada por fricción-agitación, Revista de ingeniería. Universidad de los Andes, Vol.39, p.39-44.

Araya R. Bobadilla V.C. Rosales M.B. y Vera R. (2008) Corrosión de aleaciones aeronáuticas de aluminio y sus componentes relacionadas a la expresión proteica del hongo Hormoconis resinae, Información tecnológica, vol. 19 n°2.

Askeland R.D. & Phule P.P. (2004) Essentials of Materials Science and Engineering, Thomson, Canadá, ED. COPYRIGHT.

Askeland R.D. y Wright J.W. (2017) Ciencia e ingeniería de materiales, México, México, ED. Centage Learning

Bilurbina A.L. y Liesa M.F. (2004) Corrosión y protección, Catalunya, España, ED. UPC.

Calderón, J.A. Mattos O.R. y Barcia O.E., (2006) Análisis de la evolución del potencial de circuito abierto del cobalto en medio levemente alcalino, Revista Facultad de Ingeniería (38) p.20-30.

Craig D.B & Anderson B.D. (2002) Handbook of corrosión Data, Denver Colorado, Estados Unidos, ED. ASM International.

García, O. et al., (1995) Efectos de los componentes del agua de mar durante el fenómeno de corrosión por picaduras de cobre, Revista Metal, Vol. 31, No. 5, p. 307-313.

Giannini, C. Roani, R., (2008) Diccionario de restauración y diagnóstico, San Sebastián, España, ED. Nerea.

Gómez L.H.F.C. & Alcaraz L.J.D., (2004) Manual básico de corrosión para ingenieros, Cartagena, España, ED. Universidad de Murcia.

Isaza C.J., Almeraya C.F., Estupiñan L.F. y Gaona T.C., (2015), Estudio del comportamiento del aluminio 6061-T6 cuando es sometida a corrosión asistida por esfuerzo, Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

Keyser A.K., (1982) Ciencia de materiales para ingeniería, México, México, ED. LIMUSA.

Mafia E.G., (2013) Aleaciones Estructura y propiedades de las aleaciones, Recuperado: [https://www.ing.unlp.edu.ar/catedras/M0624/download.php?secc=0&id=M0624&id\\_inc=2717](https://www.ing.unlp.edu.ar/catedras/M0624/download.php?secc=0&id=M0624&id_inc=2717).

Mariaca R.L., Genesca L.J., Uruchurtu C.J. y Salvador H.L., (1999) Corrosividad atmosférica, México, México, ED. Plaza Valdés.

Mórela S.P., (1990) Metales resistente a la corrosión, Barcelona, España, ED. Boixareu Marcombo.

Ortega M.J.A. (1990) Corrosión industrial, Barcelona, España, ED. Marcombo20.

Otero H.E., (1997) Corrosión y degradación de materiales, Madrid, España, ED. SINTESIS.

Pancorbo F.F.J., (2010) Corrosión, degradación y envejecimiento de los materiales empleados en la edificación, Barcelona, España, ED. Marcombo p.330.

Patrikno, H. y Sulistiyaning, T.H. (2017) Bio-corrosion on Aluminium 6063 by Escherichia coli in Marine Environment, The Journal for Tchenology and Science, Vol. 28, No. 2, p 55-58.

Pazos P.N., (2006) Tecnología de los metales y proceso de manufactura, Caracas, Venezuela, ED. UCAE.

Salaza J.J.A., (2015) Introducción al fenómeno de corrosión: tipos, factores que influyen y control para la protección de materiales (Nota técnica), Tecnología en marcha, Vol.28 (23), p.127-136.

Saravia G.S.G., (2006) Corrosión microbológica de metales y aleaciones en medio marino (tesis doctoral) UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA, Argentina.

Sharkckelford F.J. (2007) Introducción a la ciencia de materiales para ingenieros, Madrid, España, ED. PEARSON.

Smith W.F. y Hashemi J. (2014) Fundamentos de la ciencia e ingeniería de materiales, México, México, ED. McGraw-Hill.

Smith W.F. y Hashemi J., (2004) Ciencia e ingeniería de los materiales, Madrid, España, ED. McGraw-Hill.

Vasos H.B. y Ewing W.G. (1998) Electroquímica analítica, México, México, ED. LIMUSA.

Vázquez, V.A.J. Damborenea, J.J. y Damborenea, G.J.J., (2001) Ciencia e ingeniería de la superficie de los materiales metálicos, Madrid, España, ED. CSIC.

Vera L.E., (2010) Uso de métodos electrónicos como herramientas para evaluar parámetros de interface en sistemas heterogéneos metal/medio acuoso, REV. ACAD. COLOMB. CIENC., Volumen 34 (131), p. 241-251.

Wah, C.Y. (2007) Materials science and engineering, New York, Estados Unidos, ED. Taylor & Francis Group.

## 12. Anexos

### 12.1 Taxonomía de los Roles de Colaborador (con las actividades logradas)

<b>Roles</b>	<b>Definición de los roles</b>	<b>Nombre de él(la) investigador(a)</b>	<b>Figura</b>	<b>Grado de contribución</b>	<b>Actividades logradas durante el proyecto</b>	<b>Tiempo promedio semanal</b>
1,2,3,4,5,6	Coordinar la planificación y ejecución de la actividad de investigación. Organiza los roles de cada colaborador,	Dra. Mónica Galicia Garcia	Director del Proyecto, Diseñador de metodología, analista de datos	principal	Dirección sobre el montaje de la celda electroquímica y análisis electroquímica. Corresponsal de artículo de investigación, Dirección de Tesis de licenciatura Preparación de trabajo en congreso	10h
4,5,6,7	Contribuir con el diseño de la metodología, modelos a implementar y el sustento teórico, empírico y científico	Dra. Roxana Malpica Calderón	Diseñador de la metodología, Analista de datos	principal	Manejo microbiológico. Co-Dirección de Tesis de licenciatura Redacción de artículo de investigación, Preparación de trabajo en congreso	10h
4,5,6,7	Contribuir con el diseño de la metodología, modelos a implementar y el sustento teórico, empírico y científico	Dra. Elsa Ordoñez Casanova	Recopilador de datos	principal	Obtención de aleaciones y su caracterización. Redacción de artículo de investigación	7h
4,5,6,7	Contribuir con el diseño de la metodología, modelos a implementar y el sustento teórico, empírico y científico	Dra. Hortencia Silva Jiménez	Diseñador de la metodología, Analista de datos	principal	Manejo microbiológico. Co-Dirección de Tesis de licenciatura Redacción de artículo de investigación	7h

### 12.1.1 Estudiantes participantes en el proyecto

<b>Nombre de estudiante(s)</b>	<b>Matrícula</b>	<b>Tiempo promedio semanal</b>	<b>Actividades logradas en la ejecución del proyecto</b>
María Isabel Sáenz López	124719	9h	Aislamiento de cepa, Montaje experimental, monitoreo y análisis electroquímico. Tesis de Licenciatura, Presentación de trabajo en Congreso Nacional
Jacobo Recio Hernández	145959	9h	Aislamiento de cepa, Montaje experimental, monitoreo y análisis electroquímico. Tesis de Licenciatura, Presentación de trabajo en Congreso Nacional, Artículo indexado
Jonathan Calvillo Solís	154790	4h	Monitoreo y análisis electroquímico. El alumno únicamente apoyó experimentalmente a los tesisistas y su tesis se enfocó en otros aspectos electroquímicos. También presentó tesis de licenciatura, trabajo en congreso y artículo indexado.