

**BIODETERIORO DE METALES Y
ALEACIONES**

DE INTERÉS TECNOLÓGICO

**ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES
METAL/BIOPELÍCULA/SOLUCIÓN**

MÓNICA ALICIA FERNÁNDEZ LORENZO de MELE

**Tesis presentada para el grado de
DOCTOR EN INGENIERÍA**

**Departamento de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Universidad Nacional de La Plata
Setiembre de 1993**

Este trabajo fue realizado bajo la dirección del Profesor Dr. Héctor A. Videla, en la Sección Bioelectroquímica del Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA) y se pone a consideración de las autoridades de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de La Plata, a fin de optar al grado académico de Doctor en Ingeniería.

El arte es "yo", la ciencia es "nosotros".

Claude Bernard

Deseo expresar mi agradecimiento:

Al Dr. Héctor A. Videla por guiarme y brindarme sus conocimientos y apoyo para lograr la concreción de mis aspiraciones

A la Dra Sandra G. Gómez de Saravia por su valiosa colaboración en la realización de las experiencias microbiológicas y por su amistad sincera y generosa.

Al Dr. Robert J. J. Edyvean por su participación en la discusión del capítulo referido a protección catódica.

Al Dr. Roberto C. Salvarezza por su participación en la discusión de los capítulos referidos a materiales implantables.

A la Dra. Patricia S. Guiamet por la orientación que me brindó a través de sus conocimientos microbiológicos.

Al Lic. Gustavo J. Brankevich por la colaboración recibida en las tareas realizadas en la Central Termoeléctrica de Mar del Plata.

Al personal de la Sección de Microscopía Electrónica de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo por su eficaz colaboración.

Al Prof. Dr. Alejandro J. Arvía por haber permitido la realización de este trabajo de investigación en los laboratorios del Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), por la participación en la discusión del capítulo referido al sistema platino/soluciones salinas conteniendo glucosa y por la eficaz y decidida orientación brindada durante mis primeros años de investigación.

A mis compañeros del INIFTA y al personal técnico del mismo por su apoyo moral y colaboración oportuna.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas por las becas que me otorgó y por el apoyo económico recibido.

A The Royal Society por la financiación de mi viaje de estudio a la Universidad de Leeds.

A todos aquéllos que moral, científica y materialmente han contribuido a la realización de este trabajo de investigación.

*La nube ignora
por qué se desplaza
en una determinada dirección ; y a una
velocidad específica.*

*Siente un impulso...ése es
el rumbo de momento.*

*Pero el cielo conoce
las razones y las configuraciones
que hay detrás de todas las nubes,
y tú también las conocerás
cuando te eleves a la altura indispensable
para ver más allá
de los horizontes.*

Richard Bach

*A la memoria de mi padre,
a mi madre,
a mi esposo.*

ÍNDICE

RESUMEN.....	5
1.INTRODUCCIÓN.....	7
2. CONSIDERACIONES GENERALES.....	11
I. Etapas de formación de la biopelícula sobre una superficie no metálica inerte.....	11
II. Propiedades de la biopelícula.....	14
III. Efecto de la biopelícula sobre las resistencias por fricción y a la transferencia de calor.....	15
IV. Biocorrosión.....	16
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
I. Estudios de campo.....	22
I.1. Experiencias en la Central Termoeléctrica.....	22
a) Características de la planta.....	22
b) Características del Puerto donde se realiza la provisión de agua.....	24
c) Sistema de muestreo. Tipo de muestras metálicas. Mediciones de potencial a circuito abierto.....	24
I.2. Experiencias en la Planta Química.....	25
a) Características de la planta.....	25
b) Sistema de muestreo. Tipo de muestras metálicas.....	28
II. Estudios de laboratorio.....	28
II.1. Microorganismos y métodos microbiológicos.....	28
a) Tipo de microorganismos.....	28
b) Mantenimiento de cepas.....	29
c) Medios de cultivos bacterianos.....	29
d) Tipo de cultivos bacterianos.....	30
e) Preparación de inóculos.....	31
f) Desarrollo de cultivos bacterianos.....	31
g) Conteos bacterianos.....	32

h) Pretratamiento aplicado a las muestras metálicas con material biológico para ser observadas a través de microscopía electrónica de barrido.....	32
II.2. Estudios electroquímicos.....	33
a) La celda electroquímica.....	33
b) Técnicas electroquímicas.....	34
III. Materiales ensayados.....	34
IV. Materiales e instrumentos utilizados.....	36
Apéndice A:.....	37
Consideraciones sobre el uso de microscopía óptica y electrónica de barrido para el estudio de la adherencia sobre metales.....	37
Apéndice B:.....	38
Consideraciones generales sobre el uso de técnicas electroquímicas en el estudio del biodeterioro de metales.	
a) Técnicas electroquímicas sin aplicación de señales externas:.....	39
a ₁) Medida del potencial a circuito abierto.....	39
a ₂) Medida del potencial redox.....	39
b) Técnicas electroquímicas con la aplicación de señales externas:.....	40
b ₁) Curvas de polarización potencioestáticas.. y potenciodinámicas.....	40
b ₂) Registro de transitorios de corriente potencioestáticos.....	42
4. RESULTADOS.	
I. Sistema Platino/soluciones salinas conteniendo glucosa.....	44
II. Sistema Aluminio/plasma o sangre humanos y soluciones salinas conteniendo cloruros.....	52
III. Sistema Plata/ plasma humano y soluciones salinas conteniendo cloruros y sulfuros.....	62
IV. Sistema Metales de aplicación industrial/agua de mar natural.....	70
V. Sistema Aleación cobre-níquel 70/30 /agua de mar natural y artificial.....	91

VI. Sistema Aceros al carbono e inoxidable/agua de refrigeración tratada con inhibidores de corrosión.....	140
VII.Sistema Acero inoxidable con protección catódica/agua de mar sintética inoculada con microorganismos.....	155
5. CONCLUSIONES.....	168
I. Conclusiones particulares de cada sistema.....	168
II. Conclusiones generales.....	173
6. BIBLIOGRAFÍA.....	177
7.ABREVIATURAS UTILIZADAS.....	194

RESUMEN

La presencia de actividad biológica de células o microorganismos en un sistema metal/solución conduce a la formación de una biopelícula en la interfase. El objetivo del presente trabajo fue estudiar las interacciones metal/biopelícula/solución con el fin de prevenir la formación de biofouling y la biocorrosión en los siguientes sistemas de interés tecnológico:

- 1- Platino/soluciones salinas conteniendo glucosa.
- 2- Plata/plasma humano y soluciones salinas conteniendo cloruros y sulfuros.
- 3- Aluminio/plasma o sangre humanos y soluciones salinas conteniendo cloruros.
- 4- Metales de aplicación industrial/agua de mar natural.
- 5- Aleación cobre-níquel 70/30/agua de mar natural y sintética.
- 6- Aceros al carbono e inoxidable/agua de refrigeración tratada con inhibidores de corrosión.
- 7.- Acero inoxidable con protección catódica/agua de mar sintética inoculada con microorganismos.

Utilizando distintas técnicas electroquímicas, microbiológicas y de análisis superficial se ha podido comprobar que las interacciones metal/biopelícula/solución dan lugar a efectos de diversa índole que incluyen alteraciones en las tres fases. Se han observado modificaciones en las características superficiales y propiedades fisicoquímicas del metal; en los procesos de formación y en las propiedades de la biopelícula; en la composición de la biopelícula y la solución y en los procesos de transporte entre las fases. Entre los efectos encontrados se pueden destacar: deterioro estético y alteración de las propiedades electroquímicas y catalíticas y de los procesos de disolución del metal; modificación de la adherencia, homogeneidad y composición de las películas inorgánicas superficiales; alteración de los procesos de adsorción y fijación de los microorganismos y de la abundancia y diversidad de especies componentes de la biopelícula; creación de gradientes de concentración de moléculas y iones y alteración funcional de moléculas biológicas.

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha detectado que gran parte de los problemas de deterioro de materiales, instalaciones y dispositivos industriales y biomédicos y obras de arte son producidos por la actividad biológica. Se define como **biodeterioro** (Hueck, 1965) al cambio producido en las propiedades de un material causadas por la actividad vital de organismos. Una de las formas más comunes de biodeterioro y que causa mayores daños en la industria es la formación de un depósito biológico comúnmente conocida con el término inglés **biofouling**. Con esta palabra se designa al ensuciamiento ocasionado por organismos sobre estructuras construidas por el hombre, siendo perjudicial el resultado de dicho proceso. Se diferencia así de aquél que ocurre sobre rocas, piedras y otras superficies naturales. El depósito biológico puede estar constituido exclusivamente por moléculas orgánicas y iones provenientes de fluidos biológicos (**biofouling molecular**) o además incluir bacterias, hongos, protozoos y microalgas (**microfouling**) o macroorganismos (**macrofouling**).

La acumulación superficial de sustancias orgánicas y iones sobre un sustrato da lugar a la formación de una **biopelícula (biofilm) molecular** que modifica la humectación y la carga de la superficie metálica. (Dexter, 1986; Chamberlain y Van Woerlom, 1986). Sobre la superficie acondicionada luego se adsorberán células y/o microorganismos. La fijación de las células se logra generalmente a través de la producción por parte de las mismas de un material adherente conocido como material polimérico extracelular (MPE) o glycocalix que da lugar a la formación de una matriz orgánica (Wilderer y Characklis, 1989). Dicho material es el responsable de unir las células entre ellas y a otros materiales particulados y al sustrato. Los modernos métodos de microscopía (electrónica de barrido, de transmisión, laser de barrido, de fuerza atómica) han permitido estudiar la estructura comunitaria de algunos biofilms en los que se han visualizado microcolonias de diferentes bacterias yuxtapuestas en una película compleja adherente (Costerton et al, 1988, Costerton, 1992).

La estructura de esta matriz orgánica cambia tanto en el espacio como en el tiempo. La biopelícula se forma en superficies tan disímiles como una pieza dental o la superficie de un tubo de un intercambiador de calor. La composición de los diferentes biofilms puede estar dominada por distintos componentes, según el sistema. Aquéllos formados sobre un metal corrosible en agua de mar contendrán gran cantidad de compuestos inorgánicos de origen metálico además de los microorganismos

adheridos. Los formados sobre materiales implantables estarán dominados por sustancias orgánicas adsorbidas y/o células adsorbidas (Characklis and Wilderer, 1989).

La formación de una biopelícula tiene un efecto importante sobre el deterioro de un metal. En lo que respecta a la salud del organismo huésped es responsable de numerosos problemas de materiales implantables (cardiovasculares, ortopédicos, dentales). En la industria, reducen la eficiencia y/o vida útil de equipos ocasionando alteraciones en distintas áreas (producción de energía eléctrica, naviera, aeronáutica del papel, tratamiento de aguas industriales y de consumo, alimentaria, etc) (Characklis, 1981; Videla et al., 1988; Brankevich et al., 1990, Giúdice, 1992). También ocasionan problemas estéticos (obras de arte, piezas de museo). En la Tabla I (parte a) se enumeran algunos ejemplos de industrias y los respectivos procesos que se ven afectados por el biodeterioro, así como las pérdidas de energía, velocidad de flujo, calidad, eficiencia, etc, que redundan en perjuicios económicos.

Debe aclararse que la actividad de los microorganismos puede dar lugar a procesos beneficiosos, algunos de los cuales se mencionan en la parte b de la Tabla I. El estudio de la acumulación de material orgánico en una biopelícula así como su actividad e interacción con las interfases es de sumo interés tanto en el control de microfouling como en el desarrollo de procesos de extracción de minerales y degradación de sustancias. En un futuro más lejano podrían también ser una base para el desarrollo de biomembranas de separación, biosensores, biochips, etc.

Si bien las transformaciones fisicoquímicas y biológicas que dan lugar a la formación de una biopelícula han sido minuciosamente estudiadas para superficies **no metálicas**, generalmente inertes, es escasa la información existente referente al estudio de estos procesos en superficies **metálicas** que interaccionan con la biopelícula.

TABLA I. EFECTOS DE LA FORMACION DE BIOPELICULAS EN PROCESOS DE INTERES TECNOLOGICO

a)PERJUDICIALES

INDUSTRIA/ ENTIDAD	PROCESO, EQUIPO O LUGAR AFECTADO	INCONVENIENTES Y PERDIDAS OCASIONADOS
Industrias que utilizan agua de mar como fluido refrigerante	Formación de biopelículas en tubos de condensadores e intercambiadores de calor y en el material de relleno de torres de enfriamiento.	Pérdidas de energía. Aceleración de la corrosión.
Industria Aeronáutica	Formación de biopelículas en los tanques de almacenamiento de combustible.	Aceleración de la corrosión. Incremento del riesgo de accidentes.
Industria Naviera	Formación de biopelículas en tubos de condensadores, en cascos de los barcos, en sensores remotos, periscopios, lentes.	Aceleración de la corrosión. Aumento del consumo de combustible. Reducción de la efectividad de dispositivos de control.
Industria del Petróleo	Formación de biopelículas en sistemas de inyección, estructuras fuera de costa, tanques de almacenamiento, cañerías para transporte.	Disminución de la calidad del producto. Aceleración de la corrosión.
Servicios Municipales	Formación de biopelículas en los conductos de aguas de desecho. Desprendimiento de biopelículas en conductos de agua potable.	Pérdidas de energía. Aceleración de la corrosión. Disminución de la calidad del agua.
Salud Pública	Desprendimiento de bacterias desde biopelículas formadas en conductos de agua. Formación de biopelículas sobre los dientes. Formación de biopelículas sobre materiales implantados.	Desprendimiento de bacterias patógenas. Formación de placa dental y caries. Enfermedades intestinales, urinarias, pulmonares, cardiovasculares.
Industrias del papel, cuero, pieles refinado de azúcar	Formación de biopelículas en las distintas etapas del proceso de fabricación y almacenamiento.	Disminución de la calidad del producto. Corrosión de mamposterías y equipos.
Tratamiento de aguas	Formación de biopelículas en membranas intercambio iónico usadas en la purificación del agua.	Reducción de la efectividad de las membranas de intercambio iónico.
Obras de arte y piezas de museo	Formación de biopelículas sobre esculturas, orfebrería, herrajes, pinturas, etc.	Deterioro estético de las obras de arte y antigüedades.

**TABLA I. EFECTOS DE LA FORMACION DE BIOPELICULAS
EN PROCESOS DE INTERES TECNOLOGICO**

b) BENEFICIOSOS

INDUSTRIA/ ENTIDAD	PROCESOS EN QUE INTERVIENEN	EFFECTO BENEFICIOSO
Tratamientos de efluentes.	Inmovilización de microorganismos o comunidades de microorganismos para la extracción y oxidación de productos orgánicos de aguas de desecho.	Los microorganismos producen transformaciones químicas específicas reduciendo la contaminación del medio ambiente
Procesos de interés tecnológico en desarrollo.	Biosorción, biohidrometalurgia, biodegradación, biolixiviación.	Producción o degradación de sustancias con fines específicos.

2. CONSIDERACIONES GENERALES

I. ETAPAS DE FORMACIÓN DE LA BIOPELÍCULA SOBRE UNA SUPERFICIE NO METÁLICA INERTE.

Los procesos que conducen a la formación de una biopelícula sobre una superficie sólida, han sido estudiados a partir de fines de la década del 60 (Baier et al., 1968; Marshall y Cruickshank, 1973; Costerton et al, 1978; Corpe, 1978; Marshall, 1981; Characklis, 1981; Characklis et al, 1982; Costerton, 1992) especialmente en los casos de superficies **no metálicas e inertes**. Las publicaciones más recientes coinciden en enumerar las siguientes etapas que contribuyen a la formación de biopelículas:

- a) Transporte de moléculas orgánicas y células de microorganismos a la superficie inerte.
- b) Adsorción de moléculas orgánicas e iones a la superficie inerte dando lugar a la formación del biofouling molecular.
- c) Adsorción de células a la superficie inerte "acondicionada" para luego desorberse (adsorción reversible).
- d) Adsorción irreversible de células, que permanecen inmovilizadas en la superficie. Producción de MPE adherente que facilita la adhesión de nuevas células.
- e) Metabolismo de las células adheridas que incluye la reproducción celular y la producción de metabolitos.
- f) Desprendimiento de porciones de la biopelícula.
- g) Renovación parcial del biofilm.

El desarrollo de una biopelícula será entonces el resultado de varios procesos que ocurren en serie o en paralelo:

a) Transporte de moléculas orgánicas y microorganismos.

El transporte de moléculas y partículas menores de 0,01-0,1 μm se describe satisfactoriamente en términos de difusión pudiendo, si es flujo turbulento, considerarse el aporte de los remolinos. El transporte de moléculas y partículas pequeñas es rápido por lo que la formación de dicha película orgánica se considera que ocurre en la práctica en pocos minutos (Characklis, 1984).

Sin embargo, cuando las soluciones son muy diluidas la velocidad de transporte controlará el velocidad global de desarrollo de la biopelícula por períodos prolongados. A causa de ello, el período de inducción en el proceso de

formación de la biopelícula, será más extenso.

b) Adsorción de moléculas orgánicas a la superficie.

La interacción química inicial entre el material y el agua (de mar, industrial, etc) implica la formación de una capa de iones inorgánicos y sustancias orgánicas adsorbidas sobre la superficie que conduce a la formación de una película condicionante (Gunn et al., 1987; Baier, 1973) o biofouling molecular.

La formación de una monocapa orgánica ocurre minutos después de la inmersión de la superficie sólida. La adsorción de dichas sustancias orgánicas modifican las propiedades de la superficie en lo que respecta a la humectación superficial y a su carga eléctrica (Dexter, 1976; Chamberlain y Van Woerlom, 1986). Este proceso puede aumentar o facilitar la adherencia de los microorganismos a una superficie metálica (Carson, 1980; Dempsey, 1981; Gómez de Saravia, 1991). La naturaleza química de esta película no es bien conocida, se la describe compuesta por mono y polisacáridos, glicoproteínas, ácidos grasos, moléculas lipídicas, y macromoléculas varias, dependiendo del sistema (Baier, 1973; 1975; 1980; Wangersky, 1976; Hunter, 1980). Neihob (1975) midió velocidades de adsorción sobre distintos materiales. El máximo espesor de biofouling molecular no supera 0,1 micrones. Se sabe que este espesor no afecta significativamente el flujo de calor o de materia pero sí influye marcadamente en las etapas sucesivas de formación de la biopelícula. Está en estudio, sin embargo, la influencia que tiene sobre las propiedades electroquímicas del metal.

c y d) Adsorción reversible e irreversible de células a la superficie.

La adhesión o adsorción de células sobre un sustrato es un caso especial de quimisorción que puede ser reversible.

Se admiten generalmente dos estados de adhesión o adsorción: 1) reversible seguido de 2) irreversible. La adherencia reversible se refiere a una adhesión débil de la célula, que aún exhibe movimiento browniano, pudiendo ser removida del sustrato mediante lavado. Las fuerzas que la mantienen adherida probablemente incluyan: electrostáticas, London-van der Waals, tensión interfacial. La velocidad neta de adherencia es la diferencia entre la velocidad de adhesión y la de desorción.

Por el contrario, la adherencia irreversible tiene carácter permanente estando generalmente asociada a la producción de MPE (Marshall, 1976; Corpe,

1978; Trulear, 1983). En general puede decirse que el MPE está constituido por compuestos orgánicos tales como polisacáridos, lípidos, polifenoles, ácidos nucleicos, proteínas (Geesey y Bremer, 1993). Las células en este caso solo pueden ser removidas por un tratamiento mecánico severo.

El valor de la tensión superficial crítica así como la presencia de cationes multivalentes (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+}) influye sobre la adherencia de las células a la superficie (Baier, 1973, Dexter, 1976).

e) Metabolismo de las células adheridas

A través de los procesos de respiración y nutrición la célula obtiene la energía necesaria para reproducirse, mantener su estructura interna y formar productos extracelulares. Estos procesos constituyen en conjunto el metabolismo celular. Cuando los nutrientes se encuentran en defecto o en presencia de sustancias tóxicas, las células mueren.

Las velocidades de los procesos microbianos se pueden medir indirectamente a través de consumo de nutrientes y oxígeno y/o producción de biomasa y metabolitos. Éstos están directamente relacionados con la velocidad de transporte del fluido.

A través del consumo de sustrato pudo deducirse (Trulear, 1982; Trulear y Characklis, 1982) que el aumento del espesor del biofilm estaba directamente relacionado a la remoción del nutriente hasta un valor crítico a partir del cual la velocidad de consumo permanecía constante. El espesor crítico así hallado se incrementa con la concentración del sustrato. Los metabolitos celulares pueden ser más o menos corrosivos según el microorganismo (ácidos orgánicos, ácido sulfhídrico, ácido sulfúrico).

f) Desprendimiento de la biopelícula

El término desprendimiento se refiere a la pérdida de material por parte de la biopelícula, a diferencia de desorción que implica la pérdida de células y otros materiales por parte del sustrato. Cuando el espesor de la biopelícula aumenta las concentraciones de nutrientes y oxígeno en las porciones más profundas del biofilm tienden a cero, esto debilita la matriz del biofilm facilitando su desprendimiento. Simultáneamente, el esfuerzo de corte del fluido en la interfase biopelícula/solución se incrementa, aumentando la velocidad de desprendimiento (Trulear y Characklis, 1982).

II. PROPIEDADES DE LA BIOPELÍCULA

Aún cuando el origen de la vida no tuvo lugar sobre las superficies (Cairns-Smith and Hartman, 1986), los biofilms han aparecido en los primeros estadios de la evolución. Por ese motivo, las propiedades de los mismos son el resultado de 3.500 millones de años de selección natural (Characklis y Wilderer, 1989).

Las propiedades físicas, químicas y biológicas de una biopelícula dependen entre otros factores de las células o microorganismos, i.e. de su presencia, de su actividad y de las interacciones entre las varias poblaciones constituyentes del biofilm. La superficie del biofilm presenta una gran capacidad de adsorción y puede reunir además importantes cantidades de sedimentos, barros y otros materiales de las aguas naturales.

La representación del crecimiento de la biopelícula en el tiempo da lugar a una curva sigmoidea, por lo que la velocidad de crecimiento pasa por un máximo. En dicha curva pueden distinguirse tres regiones: de latencia, exponencial y estacionaria.

Las propiedades fisicoquímicas y biológicas del biofilm están estrechamente conectadas al ambiente en donde se desarrolla. Al respecto debe tenerse en cuenta que los microorganismos se adaptan química y estructuralmente a su ambiente y producen células muy diferentes, desde un mismo genotipo, como una respuesta a las variables ambientales (Brown y Williams, 1985). Deben tenerse en cuenta tanto los factores biológicos como los abióticos. Cada elemento de volumen del biofilm consiste de varias fases sólidas (células, polímeros, partículas inorgánicas) y una fase líquida conteniendo compuestos orgánicos, nutrientes, y otras sustancias (Wilderer y Characklis, 1989). Una característica interesante es que el número de células es relativamente bajo en relación al volumen de la biopelícula (10^4 - 10^8 células/cm³ biofilm) ocupando solamente del 1 al 10 % de la biopelícula en soluciones diluidas (Characklis, 1979).

Se sabe que una biopelícula rara vez supera los 1000 μ m de espesor y que su densidad aumenta con el esfuerzo de corte y con la concentración de nutriente. Debido a su alto contenido de agua la conductividad térmica no difiere mucho de la de ésta. Por otra parte presenta altos valores de módulos viscosos.

Recientemente se ha analizado el efecto que los campos magnéticos ejercen sobre la adherencia de los microorganismos. Se ha demostrado que la adsorción de microorganismos puede o no verse alterada, dependiendo de la susceptibilidad magnética de la bacteria en cuestión, que está asociada al nivel de

iones magnéticos adsorbidos y concentrados por las bacterias (Beech et al, 1993).

Además de su importante rol en los procesos de transferencia de masa, aumentando la resistencia difusional en la biopelícula, el MPE puede actuar como un efectivo intercambiador de cationes ya que está cargado negativamente y está altamente hidratado. Puede aumentar las concentraciones locales de especies iónicas tales como metales pesados, amonio, potasio.

Los contenidos de iones calcio, magnesio y hierro que afectan las uniones intermoleculares de los polímeros pueden variar las propiedades estructurales del depósito. Se ha reportado que el MPE interacciona fuertemente con los iones metálicos, pero no se conoce hasta qué punto las uniones de los iones metálicos con el MPE influyen sobre la termodinámica y la cinética de la disolución metálica (Geesey, 1993).

III. EFECTO DE LA BIOPELÍCULA SOBRE LAS RESISTENCIAS POR FRICCIÓN Y A LA TRANSFERENCIA DE CALOR.

Cuando la biopelícula se forma, la resistencia por fricción aumenta y si el flujo de líquido se mantiene constante causará una pérdida de presión por lo que en una cañería, por ejemplo, se necesitará mayor energía destinada al bombeo. Esto es lo que ocurre generalmente en los sistemas de refrigeración. Por el contrario si la caída de presión se mantiene constante el caudal se reducirá. Experiencias de laboratorio han demostrado que el caudal puede reducirse hasta el 42% de la capacidad original (Zelver, 1979).

Un aspecto interesante es el analizado por Picologlou et al (1980) quienes compararon las pérdidas de presión ocasionadas por el crecimiento de la biopelícula real con aquellas calculadas suponiendo que la pérdida de presión se debía al decrecimiento del radio del tubo, como si la biopelícula fuera lisa y rígida. El resultado fue que la constricción del tubo solo daba lugar al 10% de la pérdida total de presión originada por la formación de la biopelícula. Consecuentemente el efecto de la reducción del diámetro del tubo por la acumulación del biofilm es mínimo (Characklis, 1990).

Un efecto importante es el de la rugosidad de la biopelícula. Picologlou et al (1980) demostraron que el factor de fricción aumenta al aumentar el espesor de la biopelícula cuando supera un espesor crítico que es similar al de la subcapa viscosa. Sin embargo, si la superficie originalmente es rugosa, antes de llegar a ese espesor crítico se observa que, al desarrollarse el biofilm, la resistencia por fricción disminuye como si la superficie se alisara (Zelver, 1979).

Con respecto a la transferencia de calor, a través de distintas experiencias (Characklis et al, 1981; Turakhia and Characklis, 1984; Zilver et al, 1985) se ha demostrado la influencia que la formación de la biopelícula tiene en la transferencia de calor tanto por conducción como por convección. Cuando la biopelícula comienza a formarse la resistencia a la conducción es cero y existe solo una resistencia a la convección. Cuando el biofilm se acumula, la resistencia a la conducción se incrementa en proporción al espesor de la biopelícula mientras que la resistencia a la convección decrece debido al aumento del factor de fricción (Marshall, 1981).

Es importante enfatizar que el aumento de la resistencia a la transferencia de calor y al flujo ocasiona importantes pérdidas por la reducción en la eficiencia de operación de equipos, mayores costos de bombeo, etc., en numerosas industrias detalladas en la Tabla I.

IV. BIOCORROSIÓN.

En las secciones precedentes se han considerado los efectos de la formación de biopelículas sobre distintos procesos de transferencia. Consideremos ahora un sustrato metálico que se sumerge en un agua con actividad biológica. Simultáneamente con las transformaciones que dan lugar a la formación de la biopelícula ocurren otras del lado del metal debidos a la corrosión y pasivación.

a) Naturaleza electroquímica de la biocorrosión.

La corrosión es el resultado de la tendencia termodinámica de los metales a revertir su condición de refinados para lograr un estado energéticamente más estable. Al decir refinado se quiere expresar que ha sido alterado por procesos que le adicionaron energía al sistema, al decir que revierte su condición se quiere expresar que los productos formados son similares al mineral de origen. La corrosión es la reacción de disolución del metal, producida sobre la superficie del mismo, en un medio agresivo, cuya consecuencia es el deterioro de las propiedades del metal. La disolución metálica ocurre a través de una reacción de producción de electrones que da lugar a la formación de iones metálicos que fluyen a la solución, mientras que los electrones se dirigen a un sumidero donde son consumidos, cerrando de esta forma el circuito.

Se ha comprobado que en sistemas que no presentan problemas de corrosión o que si bien existen no son severos, la presencia de actividad biológica

induce la aparición de la corrosión o la acelera (las velocidades de corrosión pueden llegar a ser 100.000 veces mayores que las de corrosión abiótica, según Costello, 1969). A este tipo de corrosión es la que se ha dado en llamar **biocorrosión**.

La formación de una película de óxido sobre ciertos metales puede ofrecerles una buena protección contra la corrosión. Dicha película actúa como una barrera para el transporte de iones desde y hacia el metal. En la medida que dichas películas sean capaces de adherir firmemente, resistir al desprendimiento por la turbulencia, o reconstruirse en el caso de desprendimiento o daño, el metal será tanto más resistente a la corrosión. La forma en que los biofilms modifican la estructura de las películas pasivantes aún no se conoce con exactitud y es en la actualidad objeto de estudio (Videla y Characklis, 1992).

Las primeras descripciones de participación de los microorganismos en la corrosión se remontan a fines del siglo pasado y comienzos del actual (Garrett, 1891; Gaines, 1910; Ellis, 1919; Grant et al, 1921). Sin embargo los mecanismos que la interpretan comenzaron a discutirse en los años 30 (Von Wolzogen y Van der Vlugt, 1931), iniciándose una investigación sistemática recién a partir de la década del 60 (Booth y Tiller, 1962; Iverson, 1966; Richard, 1969).

b) Participación de los microorganismos en el proceso de corrosión

b₁) Interacciones con el medio.

El proceso de adherencia celular conduce a importantes modificaciones de la interfase metal/solución cubierta total o parcialmente por el biofilm (Videla y Characklis, 1992). El biofilm constituye una barrera para el intercambio de elementos entre el metal y el medio acuoso. Los conceptos básicos de interfase electroquímica inorgánica cambian drásticamente en presencia del biofilm. El comportamiento electroquímico del sustrato metálico depende entonces, de las interacciones recíprocas metal/biopelícula/solución.

Los microorganismos presentan características de suma importancia que facilitan su interacción con el medio: su alta velocidad de reproducción, su gran variedad de productos metabólicos (muchos de ellos de naturaleza corrosiva) y su alta relación superficie/volumen. Además, a causa de sus pequeñas dimensiones los microorganismos pueden ser dispersados fácilmente por distintos factores ambientales, pudiendo colonizar sitios verdaderamente inaccesibles, como pequeños hoyuelos y grietas.

Otro factor importante en relación con las interacciones microorganismo/electrolito y microorganismo/metal es la producción del MPE

que conduce a la formación de la matriz de la biopelícula y a una importante modificación de la interfase. Por otra parte, dentro de la matriz adherente crecen diversas especies de microorganismos que estructuran consorcios que pueden incrementar los efectos agresivos individuales (Costerton et al, 1988). Dentro del consorcio microbiano las especies interaccionan favoreciéndose mutuamente con intercambio de nutrientes, interacciones enzimáticas, protección contra agresiones ambientales, etc.

Las biopelículas son entonces sistemas estructurados de organismos embebidos en exopolímeros. Pueden ser comunidades complejas consistentes en colonias y consorcios rodeados de MPE y materiales varios atrapados. El conjunto responde a la influencia tanto del sustrato como del medio líquido. La interacción de las tres fases tiene como resultado la creación de gradientes de concentración y otros efectos locales de interés particular en corrosión (Edyvean y Videla, 1991).

Como resultado de procesos ecológicos naturales que ocurren dentro del biofilm se producen entonces un gran número de focos cuyas características fisicoquímicas son diferentes a las de su alrededor y que darán lugar a la formación de celdas de corrosión (Costerton et al, 1988). Cada sistema es un caso particular con características singulares regidas por el metal y el ambiente que lo rodea.

b₂) Creación de celdas de concentración diferencial

La remoción de oxígeno por parte de los microorganismos da lugar al empobrecimiento local del mismo. En los sitios altamente oxigenados la reacción de reducción de oxígeno se verá favorecida convirtiéndose en cátodos, mientras que los pobremente oxigenados constituirán los ánodos. Celdas de concentración de ese tipo producen severa corrosión localizada en la forma de picaduras o grietas.

Los microorganismos son capaces también de alterar la concentración iónica de su entorno y producir así celdas de concentración químicas, incluyendo la de protones que actúan en forma similar a las de oxígeno. Se sabe (Terry y Edyvean, 1981, 1986) que existen diferencias de pH entre biopelículas de algas y bacterias de hasta 9 unidades y que pueden existir cambios rítmicos diarios de hasta 3,5 unidades causados por la respiración de las microalgas. En estos casos el ánodo tiende a ser el de pH más alto (Butler e Ison, 1966) excepto cuando el metal es activado desde su estado pasivo en cuyo caso el ánodo será el sitio más ácido.

Otros tipos de celdas de concentración son las de iones metálicos, las de

iones agresivos (ejemplo de cloruros) o las de inhibidores de corrosión.

b3) Ruptura de películas protectoras.

La formación de películas pasivantes sobre metales desacelera los procesos de corrosión. Los microorganismos pueden romper dichas películas protectoras a través de la producción de metabolitos agresivos o despolarizantes (sustancias que reducen la barrera energética de la reacción superficial, Edyvean y Videla, 1991). La acción de las bacterias también puede dar lugar a la ruptura de cubiertas protectoras (pinturas anticorrosivas y anti-incrustantes, películas asfálticas, etc).

b4) Despolarización anódica

La disolución metálica puede ser facilitada por la acción de los microorganismos a través de la producción de metabolitos agresivos. Se dice entonces que existe 'despolarización' anódica. Tal es el caso de la acción del ácido sulfúrico en el caso de bacterias oxidantes del azufre. Además, metabolitos fúngicos causan problemas en la industria del papel, refinado de azúcar, almacenamiento de aeronaftas (Tiller y Booth, 1968; Videla, 1986; Iverson, 1987; Videla et al, 1988), entre otros. El ataque por ácidos ocurre generalmente a valores de pH menores que 4 (Butler e Ison, 1966) ya que a valores más altos es más significativo el efecto de las celdas de pH diferencial.

Uno de los más conocidos metabolitos agresivos que causa severos problemas de corrosión en el hierro y en el acero es el sulfuro de hidrógeno, producido por las bacterias reductoras de sulfato (BRS) en condiciones anaeróbicas. A pH neutros se forma una película de sulfuro de hierro sobre la superficie que la protege, pero una eventual ruptura del mismo origina una celda galvánica entre el sulfuro de hierro (cátodo) y el acero (ánodo), que acelera la corrosión (Edwing, 1955; Booth y Booth, 1962; Booth y Tiller, 1962; Richard, 1969; King et al, 1973; Tiller, 1983).

Dichos metabolitos pueden también actuar sinérgicamente con otros aniones agresivos como es el caso del sulfuro producido por las BRS actuando simultáneamente con el cloruro.

b4) Despolarización catódica

Aquellas reacciones que remueven electrones del cátodo y de esa forma favorecen la reacción catódica se dice que 'despolarizan' dicha reacción. Una de las teorías más aceptadas para explicar la acción de las bacterias anaeróbicas fue la de Wolzogen Kuhr and van der Vlugt (1934). Estos autores sugerían que las bacterias utilizaban el hidrógeno adsorbido sobre el cátodo en su metabolismo para oxidar los compuestos de azufre. Sin embargo, aunque dicha despolarización

para oxidar los compuestos de azufre. Sin embargo, aunque dicha despolarización sea demostrable (Iverson, 1966; Booth y Tiller, 1968), la corriente generada es insuficiente para explicar las velocidades de corrosión observadas (King et al, 1973). Esto ha conducido a la elaboración de mecanismos más complejos (Hardy, 1983) que asignan a la bacteria un papel indirecto al comprobarse la existencia de un efecto catódico debido al ácido sulfhídrico (Costello, 1974) y una modificación de los mecanismos de pasivación (De Cristóforo et al., 1986).

4

MATERIALES
Y
MÉTODOS

3.MATERIALES Y MÉTODOS.

De un modo general las experiencias realizadas podrían dividirse en experiencias de campo y experiencias de laboratorio. Las características generales de los materiales y métodos utilizados se describirán en las secciones siguientes mientras que las particulares de cada sistema se detallarán en los capítulos respectivos.

I. ESTUDIOS DE CAMPO.

Los estudios de campo se llevaron a cabo en dos establecimientos industriales:

- Una Central Termoeléctrica (experiencias "A")
- Una Planta Química (experiencias "B")

I.1. EXPERIENCIAS "A"

a) Características de la planta

La Central Termoeléctrica "9 de Julio" de E.S.E.B.A. S.A., está ubicada en el ámbito del Puerto de Mar del Plata ($38^{\circ} 08' 17''$ S, $57^{\circ} 31' 18''$ O), (Fig. 1). La potencia de la central es de 90 MW y se distribuye entre tres turbinas de 30 MW cada una.

La provisión de agua de mar a la central, se realiza por un circuito abierto, siendo la toma y la descarga de la misma a través de canales subterráneos construidos para tal fin, desde el edificio de la central hasta el Puerto de Mar del Plata en la dársena C para la entrada y en la dársena B para la salida (Figs. 1 y 2). Como puede observarse la toma de agua se encuentra muy alejada de la boca del puerto lo que en parte justifica los altos niveles de polución y la baja concentración de oxígeno debido a la escasa renovación del agua.

El agua de refrigeración que ingresa a la central (a 490 m de la toma de

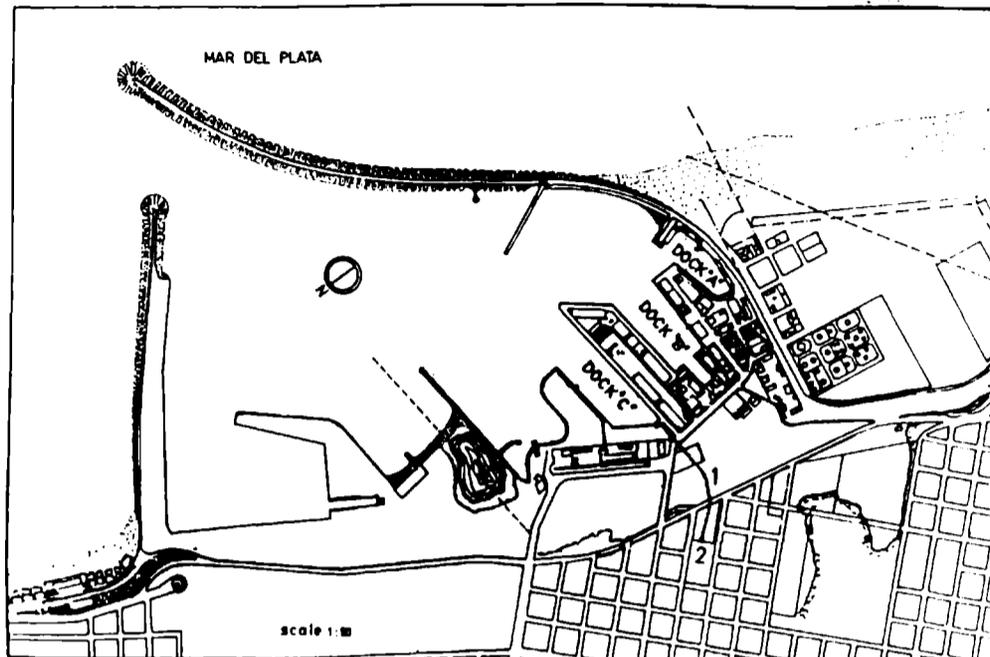


Fig. 1: Plano del Puerto de Mar del Plata . Se muestran las dársenas A, B y C ("docks A, B, C).

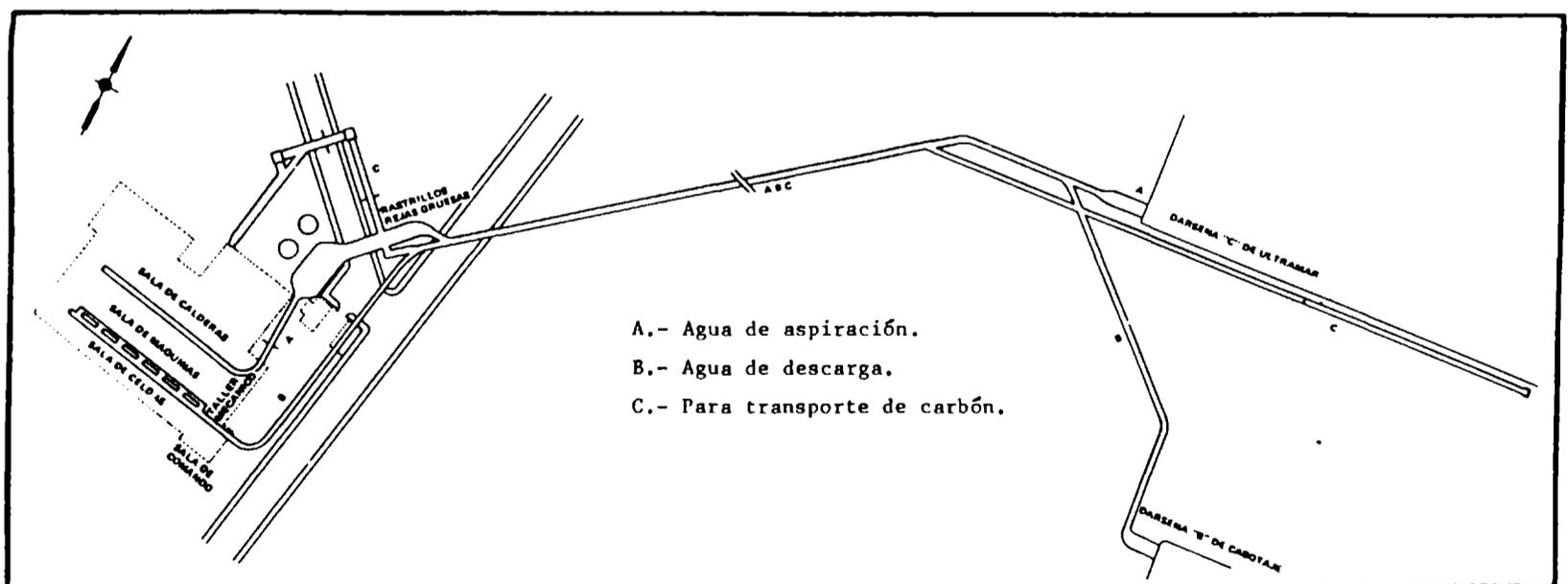


Fig. 2: Plano de los canales de acceso del agua de refrigeración a la Central Termoeléctrica "9 de julio" de Mar del Plata.

agua), es filtrada por dos sistemas de filtros rotativos: uno grueso y otro fino. El sector de filtrado grueso, fue el elegido para la toma de muestras, ya que el mismo es el único que ofrece acceso directo a las tuberías en los momentos en que la central se encuentra en funcionamiento.

b) Características del puerto desde donde se realiza la provisión de agua de mar

El puerto tiene aproximadamente de 2500 m longitud y 2000 m de ancho. Está limitado por dos muelles y su entrada de 300 m de ancho, mira al noreste. Las características topográficas e hidrológicas del mismo impiden una adecuada renovación de las aguas en toda su extensión. Dicha renovación se efectúa deficientemente a través de su estrecha entrada y es provocada por una diferencia de nivel por mareas de 1 m.

El puerto puede dividirse en tres áreas: área externa, con una buena renovación de las aguas; área media, con una pobre renovación, y un área interna, con escasa renovación. Esta última presenta elevado nivel de polución indicado por valores bajos de DO (demanda de oxígeno), bajo pH, alto contenido de materia orgánica, considerables concentraciones de sulfuro, etc. Estudios ecológicos en dicha zona han sido realizados por Bastida (1971 a; 1971 b). Las características más notables son: baja turbulencia; salinidad= 3,2% a 3,5%, pH bajo (6,5 a 7,9); DO= 0,8 ml/l a 6,0 ml/l (valores que varían de acuerdo a la región considerada) y alto contenido de materia orgánica suspendida. La temperatura media del agua, muestra variaciones anuales entre 12 C y 15 C. Los valores más altos corresponden a febrero y marzo (21 C- 23 C), mientras que los menores son alcanzados en julio y agosto (6 C- 8 C).

c) Sistema de muestreo. Tipo de muestras metálicas. Mediciones del potencial a circuito abierto "in situ".

Las muestras de los metales ensayados (aluminio, titanio, cobre, aleaciones de cobre-níquel 70/30, bronce, y aceros inoxidable de tipo AISI (304, 304L, 316T y 430) se colocaron sobre paneles de acrílico arenado (material inerte) similares a los utilizados en estudios ecológicos previos (Brankevich et al., 1985). Estos paneles, se dispusieron en juegos y se ubicaron en la zona de filtrado grueso con la colaboración del Lic. G.

Brankevich, asistente técnico de ESEBA S.A.. Cada juego estuvo compuesto de dos paneles de acrílico superpuestos de 30 cm x 10 cm de base por 0,2 cm de espesor sujetos a un soporte de acrílico. El juego de paneles, se suspendió con una soga de nylon sujeta en su extremo superior a un gancho amurado y en su extremo inferior se colocó un peso, para otorgar rigidez al conjunto. Las muestras tuvieron un flujo de agua de 0,2 a 0,3 m/s. El flujo en los túneles de entrada de agua es laminar, hasta el sector de bombas que está situado cerca de los condensadores. El volumen de agua que circula es de 15.000 m³/h.

Los muestreos, se realizaron en distintos períodos del año y abarcaron diferentes períodos de tiempo (1; 3; 5; 7; 14; 28; 49 y 60 días). Durante la inmersión se midieron los potenciales a circuito abierto (PCA) "in situ" en el canal de acceso de agua de mar a la central termoeléctrica. Con ese fin cada muestra metálica fue provista de un contacto eléctrico aislado conectado a un multímetro Keithley 169. En todos los casos se utilizó un electrodo de calomel saturado (ECS) a través de un capilar de Luggin como referencia.

Una vez extraídos los paneles, se analizaron sistemáticamente las biopelículas formadas sobre las muestras, y se observó el ataque de las mismas en el microscopio óptico, y en el microscopio electrónico de barrido (MEB) y se estudió su comportamiento electroquímico.

I.2. EXPERIENCIAS "B"

a) Características de la Planta. Sistema de enfriamiento.

El sistema de enfriamiento de agua de la planta química consistía en dos torres (2006 y 2013) de recirculación abierta de acuerdo al diagrama de la Fig. 3. Las características del sistema se describen en la Tabla II y la composición del agua de enfriamiento se describe en la Tabla III .

A ambas torres se aplicaban compuestos químicos para el control de las incrustaciones inorgánicas y de la corrosión. Con el fin de comparar el efecto de la formación de las biopelículas sobre la corrosión de los tubos del intercambiador de calor sólo en una de ellas (torre 2013) se realizaba el control del biofouling basado en biocidas oxidantes (cloro o hipoclorito de sodio).

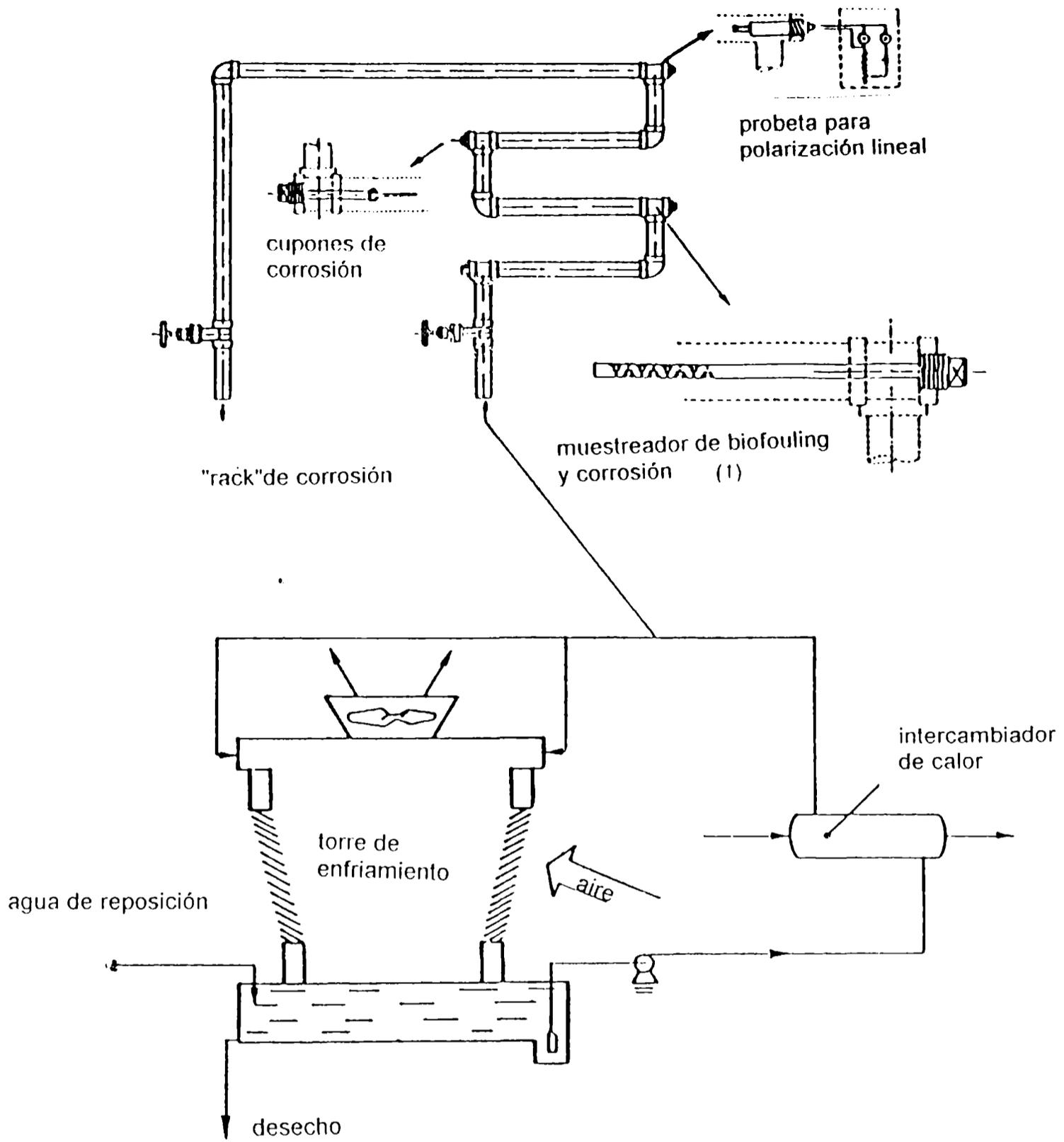


Fig. 3

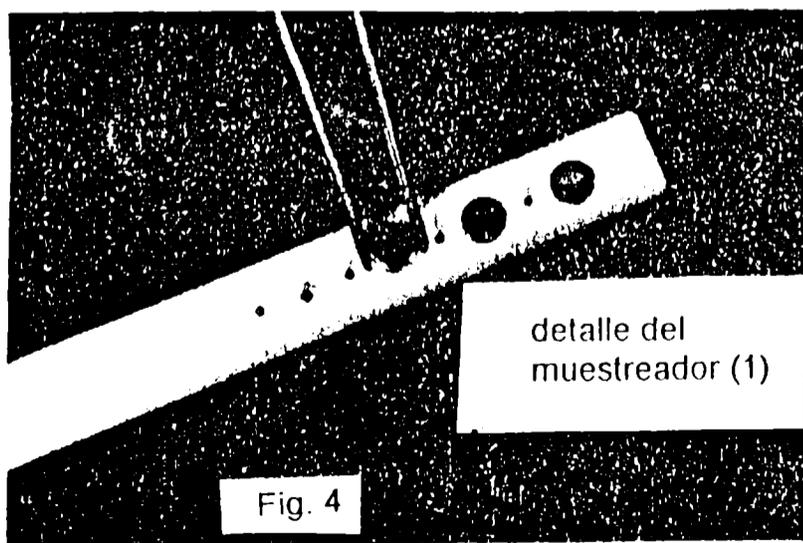


Fig. 3: Diagrama general de los sistemas de enfriamiento.

Fig. 4: Detalle del sistema de muestreo múltiple.

TABLA II . Características del sistema de enfriamiento

Sistema: Torre 2006		Sistema: Torre 2013	
Volumen (m ³) =	60	Volumen (m ³) =	60
Velocidad de recirculación (m ³ /h) =	240	Velocidad de recirculación (m ³ /h) =	100
Variación de temp. (°C) =	3	Variación de temp. (°C) =	8
Intercambiadores de calor de freón.		Intercambiadores de calor de vidrio.	
Metalurgia:		Metalurgia:	
acero inox., acero al carbono, cobre		acero inox., acero al carbono, cobre	

TABLA III . Análisis químico del agua de enfriamiento

ITEM	TORRE 2006	TORRE 2013	UNIDAD/ ppm
pH	7,7	7,1	-
Alcalinidad total	53,0	40,0	CaCO ₃
Dureza total	159,0	194,0	CaCO ₃
Dureza (calcio)	142,0	173,0	CaCO ₃
Dureza (magnesio)	17,0	21,0	CaCO ₃
Cloruros	84,9	96,3	Cl ⁻
Ortofosfatos	1,2	0,6	PO ₄ ³⁻
Fósforos orgánicos	2,8	1,8	PO ₄ ³⁻
Sílice	5,4	6,4	SiO ₂
Sulfatos	116,0	118,0	SO ₄ ²⁻
Hierro total	0,2	0,9	Fe
Aluminio	0,3	0,6	Al
Cinc	0,7	0,7	Zn
Sólidos disueltos totales	494,0	514,0	(20 C)
Cobre	0	0	Cu

a) Sistema de muestreo. Tipo de muestras metálicas.

El sistema de muestreo consistía en un bastidor situado en forma derivación ("sidestream rack") en el cual se ubicaban muestras metálicas para realizar estudios de corrosión y de bioincrustaciones. El dispositivo utilizado para realizar la toma de muestra puede verse en la Fig. 4. Las muestras de un área de 0,5 cm² se colocaban a presión en un soporte de Teflon que se ubicaba en uno de los sitios de muestreo (Fig. 3).

Las muestras metálicas utilizadas en estas experiencias correspondieron a los aceros inoxidable tipo AISI 316 y acero al carbono tipo SAE 1009.

Después de un período de exposición que variaba entre 5 y 15 días se retiraban las muestras metálicas que eran llevadas al laboratorio en un recipiente cerrado lleno de agua del sistema. Algunas de ellas se trataban con ultrasonido para desprenderles la biopelícula y otras eran preparadas para su observación a través del MEB, como se describirá en la sección siguiente.

II. ESTUDIOS DE LABORATORIO

II.1. Microorganismos y métodos microbiológicos.

A continuación se describen los métodos microbiológicos, los microorganismos empleados en las experiencias de laboratorio y las técnicas de microscopía óptica y MEB empleadas tanto en muestras sometidas a experiencias de campo como de laboratorio.

a) Tipo de microorganismos.

Se trabajó con cepas bacterianas de características muy disímiles. *Desulfovibrio vulgaris* (*D. vulgaris*) y *Desulfovibrio desulfuricans* (*D. Desulfuricans*) ambas bacterias reductoras de sulfatos (BRS) y *Vibrio alginolyticus* (*V. alginolyticus*).

La cepa de *V. alginolyticus* fue aislada y provista gentilmente por el Dr. Luis Monticelli (INIDEP, Mar del Plata) del agua de mar poluída del Puerto de Mar del Plata. Las cepas de *D. vulgaris* y de *D. desulfuricans* fueron gentilmente cedidas, por la Dra. Christine Gaylarde (City of London Polyte-

de Mar del Plata. Las cepas de *D. vulgaris* y de *D. desulfuricans* fueron gentilmente cedidas, por la Dra. Christine Gaylarde (City of London Polytechnic, U.K.). Dichas cepas fueron mantenidas en estado puro en el laboratorio de la Sección Bioelectroquímica de INIFTA por las Dras. Sandra Gomez de Saravia y Patricia Guiamet.

Se utilizaron también mezclas de bacterias aeróbicas aisladas de las paredes del acuario marino de la Universidad de Leeds., Leeds, Reino Unido.

b) Mantenimiento de las cepas bacterianas

Las cepas de *V. alginolyticus* se mantuvieron en agar nutritivo más un 3 % de NaCl (agar en pico de flauta, sembrado en estría).

La cepa de *D. vulgaris* se mantuvo en medio líquido y semisólido de Postgate medio C (Postgate, 1984) (sembrado por punción) con y sin el agregado de un 30 g/l de NaCl, bajo condiciones de anaerobiosis. Esta condición se logró con la utilización de jarras de anaerobiosis. Al medio de Postgate C, se le incorporaron limaduras de hierro, para verificar la positividad del crecimiento.

La pureza de las cepas se chequeó a intervalos regulares por plaqueo en agar nutritivo más un 10 % de NaCl para el *V. alginolyticus* y test de Coloración de Gram para el *D. vulgaris*.

Las bacterias aeróbicas aisladas del acuario marino fueron mantenidas en agar nutritivo (Nutrient Agar, Oxoid Ltd.).

c) Medios de cultivo utilizados

Los medios de cultivo utilizados fueron:

1. Agua de mar artificial, preparada según la fórmula de Lyman y Flemming. Su composición se expresa en g/l:

NaCl: 23,4

MgCl₂: 10,45

Na₂SO₄: 3,9

CaCl₂: 11,0

KCl: 0,66

FeCl: 1 o 2 gotas de solución al 35 %

Agua destilada 1000 ml

pH:= 7,5

1 g/l de extracto de levadura (cuando se usa como medio de cultivo).

2. Medio líquido de Postgate C (Postgate, 1984). Su composición en g/l es la siguiente:

KH₂PO₄: 0,5

NH₄Cl : 1,0

Na₂SO₄: 4,5

CaCl₂ 6 HO₂: 0,06

Lactato sódico (50 %): 3,0

Extracto de levadura: 1,0

Citrato de sodio 2H₂O: 0,3

NaCl: 30

Agua destilada 1000 ml

1 g/l de extracto de levadura (cuando se usa como medio de cultivo).

3. Medio semisólido de Postgate C con agregado de agar (utilizado únicamente en el mantenimiento de las cepas).

En todos los casos el pH de las soluciones, se ajustó a 7,5 con solución de OHNa (0,1 N y 0,01 N). Los medios fueron esterilizados en autoclave a 121 C durante 20 minutos. Los productos químicos utilizados para la preparación de los medios fueron de grado analítico (Merck Darmstadt).

d) Tipo de cultivos bacterianos.

Se trabajó con cultivos puros y mixtos.

1. Cultivos puros de *V. alginolyticus*.

2. Cultivos puros de *D. vulgaris*.
3. Cultivos aeróbicos mixtos de bacterias marinas.
4. Cultivos mixtos (anaeróbicos) de *D. vulgaris* y *D. desulfuricans*.
5. Cultivos mixtos (aeróbico facultativo/anaeróbico) de *V. alginolyticus* y *D. vulgaris*.

e) Preparación de inóculos

Los inóculos de *V. alginolyticus* se prepararon con las suspensiones del desarrollo obtenido en el agar inclinado, más un volumen de 2 ml de agua de mar artificial o medio líquido de Postgate C. Los inóculos de *D. vulgaris* y *D. desulfuricans* se prepararon con 50 ml de medio líquido de Postgate C más 30 g/l de NaCl en condiciones de anaerobiosis.

El inóculo de bacterias aeróbicas marinas era utilizado para producir el nivel inicial de 10^4 células/ml en un medio de cultivo formado con una relación 9:1 de agua de mar artificial y caldo nutritivo (Nutrient Broth No. 2, Oxoid Ltd.).

f) Desarrollo de los cultivos bacterianos

Los inóculos eran volcados en erlenmeyers conteniendo 200 ml del medio de cultivo que luego eran tapados con tapones de algodón y colocados en un agitador mecánico durante 3 horas después de las cuales permanecían en estado estático.

Ocasionalmente se realizaron cultivos en un fermentador rotativo discontinuo de 5 litros de volumen provisto de control de pH y temperatura y con aireación forzada, cuyo seguimiento estuvo a cargo de la Dra. S. Gómez de Saravia.

En el caso de los cultivos de *D. vulgaris* y *D. desulfuricans* puros y mixtos, el erlenmeyer, una vez inoculado, se guardó en la jarra de anaerobiosis.

Los cultivos mixtos aeróbico facultativo/anaeróbico se lograron

inoculando *D. vulgaris* en cultivos puros de *V. alginolyticus* cuando el nivel de oxígeno medido en estos últimos, estuvo en valores próximos a cero.

La temperatura de incubación en todos los casos fue de 28 C.

El crecimiento de los cultivos bacterianos fue monitoreado por la determinación de la densidad óptica a 610 nm, utilizando un espectrofotómetro y también mediante conteos en placa.

Las muestras de los metales ensayados se sumergían en los cultivos durante un período predeterminado y se retiraban de los mismos en diferentes períodos de exposición que variaron entre dos horas y veinte días.

g) Conteos bacterianos

Conteos de células viables

Cumplido el período de exposición las muestras fueron removidas, lavadas con agua de mar o solución fisiológica estéril y desprendidas de la superficie metálica con un bisturí. La solución resultante se transfería a un tubo de ensayo con 10 ml de agua de mar o solución fisiológica estéril. La enumeración de las células se realizó por el método estándar de conteo de viables. Las colonias fueron contadas después de 48 h de incubación a 28 C.

Conteos directos por microscopía de epifluorescencia.

La enumeración de células se realizó *in situ* por microscopía de epifluorescencia. Cumplido el período de exposición las muestras fueron removidas del cultivo bacteriano, teñidas con una solución 0,01 % de anaranjado de acridina durante 5 minutos, lavadas con agua de mar artificial estéril para remover las células débilmente adheridas, y examinadas luego bajo luz ultravioleta en un microscopio de epifluorescencia (Nikon, con luz reflejada fluorescente) a X400 de magnificación. Las células fueron contadas en 12 campos por muestra elegidos al azar de 0,0464 mm² de superficie.

h) Pretratamiento aplicado a las muestras metálicas con material biológico para ser observadas a través de MEB.

Para poder analizar las biopelículas formadas sobre las superficies metálica en el MEB, se les efectuó a las muestras el siguiente tratamiento:

1- Lavado con agua de mar filtrada (por filtro Millipore de 0,45 μm de diámetro de poro); agua de mar artificial o medio líquido de Postgate C, según el caso.

2- Lavado , sumergiéndolas en soluciones con proporciones crecientes de agua destilada/agua de mar artificial o medio líquido de Postgate C hasta el 100 % de agua destilada, durante 10 o 15 minutos.

3- Deshidratación en una serie gradual de acetona y agua destilada hasta el 100 % de acetona.

4- Secado mediante la Técnica del Punto Crítico. (*)

5- Metalizado con oro paladio.

(*) El secado por la Técnica del Punto Crítico, consiste en reemplazar bajo presión la acetona por CO_2 y luego subir la temperatura más allá del punto crítico con el fin de eliminar el CO_2 como gas, sin la formación de la interfase líquido-vapor, en la cual las tensiones superficiales afectan deformándolas (Operating instructions for the Critical Point Drying System).

En el Apéndice A ("Consideraciones generales sobre el uso de microscopía óptica y electrónica de barrido para el estudio de la adherencia microbiana sobre metales") se discuten éste y otros métodos microscópicos de análisis.

II.3. Estudios electroquímicos

a) La celda electroquímica.

Las experiencias electroquímicas fueron realizadas a 25 C en una celda de vidrio Pyrex de doble pared para facilitar su termostatación. El electrodo de trabajo era un cilindro o disco de metal incluido en la resina Araldite. El potencial del electrodo de trabajo se refirió al ECS a través de un capilar de Luggin. El contraelectrodo era una lámina de Pt. Cuando se utilizaban soluciones desaireadas éstas eran obtenidas burbujeando nitrógeno de alta pureza en la solución durante 90 min.

b) Técnicas electroquímicas.

Los estudios electroquímicos se realizaron empleando distintas técnicas: medidas de potencial a circuito abierto (PCA), medidas del potencial redox, curvas de polarización potencioestáticas y potenciodinámicas (incluyendo la determinación de potenciales de picado y de repasivación, uso del electrodo de disco (platino) y anillo (oro)) con distintos programas de perturbación, registro de transitorios de corriente potencioestáticos. En el apéndice B ("Consideraciones generales sobre las técnicas electroquímicas empleadas en el estudio del biodeterioro") se describen dichas técnicas y se discute su utilidad. Los detalles sobre su aplicación en cada sistema en particular se describen en los capítulos respectivos.

III. MATERIALES ENSAYADOS.

En los estudios de laboratorio, se trabajó con discos y cilindros metálicos de distintos diámetros entre 7 y 2 mm. Se emplearon metales puros Ag 99%, Al 99,99% y 99,7%, Pt 99,99%, Ti grado 2 y Cu 99,99% y aleaciones cuya composición se detalla en la Tabla IV (a y b).

Los cupones ensayados en los estudios realizados en la Central Termoeléctrica, consistieron en láminas circulares de 18 mm de diámetro, de aceros inoxidable del tipo AISI (American Institute Stainless Iron) 304, 304L, 316T y 430 y aleaciones de cobre: cobre-níquel 70/30 y bronce aluminio, cuyas composiciones se detallan en la Tabla IV (a y b).

Los cupones ensayados en los estudios realizados en los sistemas de refrigeración de la planta química consistieron en cilindros de 0,5 cm² de base de acero inoxidable AISI 316 y de acero al carbono SAE 1009 cuyas composiciones se describen en la Tabla IVb.

TABLA IVa. Composición química de las aleaciones de cobre

Elem. %	Cobre-níquel 70/30	Bronce aluminio
Cu	67	77,5
Ni	31,9	-
Fe	1,1	-
Zn	-	19,5
Al	-	2,5
As	-	0,02

TABLA IVb. Composición química de los aceros

Metal \ Elem. %	AISI 304	AISI 304L	AISI 316	AISI 316T	AISI 430	SAE 1009
Ni	10,28	10,19	11,70	10,65	-	-
C	0,04	0,03	0,06	0,05	0,10	0,06
Mn	1,55	-	1,62	-	-	0,50
Si	0,51	-	0,46	-	-	0,10
Cr	19,66	19,33	17,10	17,48	17,0	-
Mo	-	-	2,34	4,04	-	-
Ti	-	-	-	0,4	-	-

IV. MATERIALES E INSTRUMENTAL UTILIZADOS

-Lijas al agua de diferente granulometría (320, 400, 500, 600). Paños para pulido. Pasta de diamante. Pasta de alúmina de 0,1 μm de grano.

-Pulidora automática de metales. Prazis, modelo Pul 01.

-Potenciostato. LYP, modelo M5.

-Registrador x-y. Houston, modelo Omnigraph.

-Generador de función rampa. LYP, modelo GRM-2.

-Multímetro. Keithley, modelos 179 y 166.

-Espectrofotómetro. Spectronic 70.

-Jarras para anaerobiosis. BBL. Modelo Gaspak.

-Ccontador de colonias. Ionomex.

-Electrodos combinados de pH. Radiometer.

-Electrodos de calomel saturado. Radiometer.

-Electrodos para medición de oxígeno disuelto. LKB.

-Microscopio óptico biológico. Olympus, modelo BHTU.

-Lupa estereoscópica. Nikon, modelo SMZ10. Accesorio: Cámara fotográfica con exposímetro automático Nikon, modelo Microflex HFX.

-Microscopio óptico metalográfico. Olympus, modelo Vanox. Accesorio: cámara fotográfica Olympus, modelo PM-10-M.

-Microscopio electrónico de barrido. Jeol, modelo JSM 35 CF (Facultad de odontología, UBA).

-Microscopio electrónico de barrido. Philips, modelo 500 con EDXA incorporado (INTI).

-Microscopio electrónico de barrido. Jeol, modelo JSM-T 100 (Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP).

-Microscopio electrónico de barrido. Philips, modelo 505 con EDXA incorporado (CINDECA).

-Equipo para secado por punto crítico. Sorvall.

-Metalizador. Jeol, modelo Fine Coat Ion Sputter JFC-1100 (Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP).

APENDICE A

Consideraciones generales sobre el uso de microscopía óptica y electrónica de barrido para el estudio de la adherencia microbiana sobre metales

La utilización de la lupa estereoscópica y el microscopio óptico es de gran importancia para una primera observación de las muestras, permitiendo obtener una descripción general de las mismas y en algunos casos determinar los microorganismos presentes (Gómez de Saravia et al., 1992). Una variante interesante la constituye la microscopía de epifluorescencia. Los microorganismos pueden ser detectados y enumerados directamente luego de la tinción de la muestra con un colorante fluorescente que refleja la luz proveniente de una fuente de epi-iluminación mediante el uso de filtros apropiados. Dentro de la variedad de colorantes utilizados, el naranja de acridina permite la visualización de los microorganismos luego de tan solo 5 min de tinción.

El MEB, desarrollado comercialmente a mediados de la década del 60, ha permitido un gran avance en la observación de muestras biológicas. Estos microscopios presentan una serie de características sumamente importantes (Hearle et al., 1972): a) Pueden ser operados en una escala amplia de

aumentos. Esta escala se extiende desde el aumento de 10 X hasta 20.000 X.
b) Tiene una gran profundidad de foco, por ejemplo, en un aumento de 1.000 X la profundidad de foco puede llegar a 10 μm .

El inconveniente que presenta este tipo de observación es que la muestra debe en general someterse al vacío en una cámara especial siendo necesario que el material esté libre de agua o cualquier sustancia volátil. La deshidratación de la muestra puede provocar efectos artificiales. No obstante, un manejo experimental adecuado permite obtener excelentes imágenes.

La utilización de barridos horizontales para ver los relieves o depresiones de una muestra, permite en la MEB la obtención de imágenes topográficas que son particularmente útiles para apreciar el grado de ataque al sustrato metálico bajo las biopelículas bacterianas.

El microscopio de barrido ambiental presenta una notable ventaja respecto al anterior pues posibilita el manejo de las muestras húmedas sin realizar fijación o deshidratación. Desgraciadamente hasta la fecha no se encuentran equipos de este tipo en nuestro país.

APENDICE B

Consideraciones generales sobre las técnicas electroquímicas empleadas en el estudio del biodeterioro de metales

Las técnicas electroquímicas (TEQ) han demostrado ser de suma utilidad en el estudio de la biocorrosión. Extensas discusiones sobre el tema han sido publicadas por Dexter et al. (1991) y Little y Mansfield (1991).

En la realización del presente trabajo se han empleado varias técnicas electroquímicas, las que, teniendo en cuenta el tipo de perturbación aplicada a la muestra podemos considerar divididas en: sin aplicación de señal externa y con aplicación de señal externa. Entre las primeras se realizaron medidas de PCA y de potencial redox y entre las segundas registro de curvas de polarización potenciodinámicas y transitorios de corriente. Las características de las mismas se analizan a continuación:

de las mismas se analizan a continuación:

a) TEQ sin la aplicación de señales externas.

a,) Medida del Potencial a circuito abierto (PCA)

El uso del PCA en el estudio de MIC se remonta a mediados de siglo cuando Hadley (1943) Wanklyn y Spruit (1952) y más tarde Horvath (1960) reportaron datos referidos a corrosión inducida por bacterias sulfato reductoras. Sin embargo, estos estudios estuvieron limitados por la falta de mediciones complementarias de potencial redox, resistencia de polarización, curvas de polarización, etc.

No obstante, a través de esta TEQ es posible obtener información acerca del estado activo-pasivo de un metal (Scotto et al, 1985, 1986; Johnsen y Bardal, 1986, Dexter y Gao, 1988; Mollica et al., 1988, 1989; Chandrasekaran y Dexter, 1993).

La medida del PCA es sencilla, se realiza determinando la diferencia de potencial entre un metal sumergido en un determinado medio corrosivo y un electrodo de referencia apropiado como puede ser el ECS. El instrumento utilizado debe ser un potencióstato o un voltímetro de alta impedancia. El valor del PCA depende de la naturaleza del metal en cuestión, así como de la composición, temperatura e hidrodinámica del electrolito. El dato numérico debe estar acompañado del signo y del tipo de electrodo de referencia utilizado. Debe tenerse especial cuidado en mantener el electrodo de referencia libre de la formación de biopelículas.

a,) Medida del Potencial Redox

El potencial de óxido-reducción (redox) está asociado con el equilibrio redox del oxígeno del medio sobre un electrodo de platino. Se asume que las velocidades de oxidación y reducción de oxígeno sobre platino son iguales siendo este potencial una función de la concentración de oxígeno, la temperatura y el pH del medio. A una dada temperatura y pH, el potencial redox será más negativo a menor concentración de oxígeno. Estrictamente hablando los sistemas con actividad biológica no se encuentran en equilibrio, sin embargo, en condiciones estacionarias el potencial redox provee importante información acerca de las características del ambiente que rodea al

metal en cuestión y sobre los cambios que los microorganismos producen en el mismo (Salvarezza et al., 1981; Zhang et al., 1989; Dexter et al., 1991).

b) TEQ con la aplicación de señales de perturbación externas

b.) Curvas de polarización potencioestáticas y potenciodinámicas. Una curva de polarización anódica ideal para un metal susceptible de pasivarse (aluminio, cromo, cobalto, hierro, níquel, titanio y sus aleaciones) muestra que moviéndose en el sentido catódico-anódico se encuentra una región activa caracterizada por una corrosión generalizada, hasta que se comienza a formar una película pasiva en el potencial llamado potencial de pasivación. A partir de dicho potencial la corriente cae llegando a un valor bajo y estable (corriente pasiva), independiente del potencial (Stern y Geary, 1957).

Obviamente para que la pasividad sea estable la corriente de disolución activa debe ser baja y el valor del potencial de pasivación debe ser lo más activo posible. La descripción básica de esta TEQ puede hallarse en los ASTM standards G 3 (1981) y G 5 (1982). Más recientemente Siebert (1986) ha realizado una revisión de esta técnica.

Es una técnica relativamente sencilla de la cual se puede obtener óptimos resultados si las condiciones experimentales se ajustan a las características del sistema en estudio. Se debe seleccionar adecuadamente la velocidad de barrido y eliminar las caídas óhmicas a fin de que las curvas de polarización obtenidas no reflejen los efectos de las condiciones experimentales. Se ha demostrado (Mollica et al, 1991) que la utilización de altas velocidades de barrido puede conducir a severas distorsiones de los resultados.

Una velocidad rápida en el sentido positivo (60 V/h, por ejemplo), se utiliza para determinar las regiones en las que ocurre una intensa actividad anódica, minimizándose la formación de las películas pasivas. Las velocidades lentas (1 V/h y menores) en cambio, proveen una superficie de electrodo relativamente estable (más estable cuanto menor sea la velocidad), permitiendo la formación de las películas pasivas. La simultaneidad de los procesos de corrosión y formación de biofilms exige mucha cautela en la elección de la velocidad y los límites de potencial, de acuerdo al grado de desarrollo de la biopelícula. Una gran sobretensión aplicada sobre la

biopelícula puede tener efectos perjudiciales para la misma debidos a cambios locales de pH, oxigenación, etc (Dahr et al., 1982, Bockris et al., 1983).

Numerosos autores han utilizado curvas de polarización a fin de determinar los efectos de los microorganismos sobre el comportamiento electroquímico de un metal. Los estudios de biocorrosión utilizando esta TEQ fueron recopilados recientemente por Tiller (1986) y Duquette y Ricker (1986).

En el estudio de las propiedades de óxidos y compuestos adsorbidos sobre los electrodos se emplearon técnicas potenciodinámicas de barrido con programas de perturbación especiales diseñados para detectar productos de oxidación adsorbidos, pretratar electrodos para iniciar las experiencias con superficies reproducibles, etc..

Los electrodos de disco rotatorio son sumamente útiles en electroquímica ya que permiten controlar las condiciones convectivas en el estudio de las reacciones de electrodo. Constan de una zona central activa, metal y una zona inerte generalmente de Teflon ubicada en forma concéntrica al metal, cuyo propósito es mantener la distribución de concentraciones constantes en el sentido radial. Tales electrodos deben estar perfectamente centrados, pulidos y funcionar libres de vibraciones a fin de asegurar un flujo laminar. Las condiciones de flujo determinan la formación de una película de difusión uniformemente accesible, es decir, espesor constante. Dicho espesor depende de la velocidad de rotación, de la viscosidad cinemática del fluido y del coeficiente de difusión de la especie que reacciona.

Los llamados electrodos rotatorio de disco y anillo tienen un anillo que rodea concéntricamente al disco, separado por una franja inerte que lo aísla del disco. Cada electrodo recibe una perturbación de potencial distinta, seleccionada de tal forma que los productos solubles producidos en el disco puedan ser detectados en el anillo.

b₁₁) Determinación de los potenciales de picado y de repasivación.

Si la curva de polarización anódica de metales con transición activo-pasivo se extiende más allá de la región pasiva se observa que en un cierto potencial conocido como potencial de ruptura o de picado (E_p) la corriente asciende bruscamente. Si a partir de un determinado valor de la corriente se

invierte el sentido de barrido de potencial, se observa que después de pasar por un máximo la corriente decrece hasta llegar al valor de la corriente pasiva, en un potencial conocido como potencial de repasivación (E_r). El efecto de la presencia de la biopelícula sobre estos dos parámetros ha sido analizado por varios autores (Ringas y Robinson, 1987, 1988; Dexter y Gao, 1988; Moreno et al., 1991).

En el análisis de los datos debe tenerse en cuenta que el E_p provee información referida a la tendencia al picado, pero no acerca del tiempo que transcurre antes de aparecer el primer hoyuelo (tiempo de inducción), ni sobre la velocidad a la cual el ataque se propaga (Szkłarska-Smiałowska, 1987). Por este motivo esta técnica suele completarse con el registro de transitorios de corriente potencioestáticos.

b.) Registro de transitorios de corriente potencioestáticos.

El registro de los transitorios de corriente, a potenciales preseleccionados en la vecindad del E_p u otro potencial característico, permite conocer el tiempo de inducción del picado así como información acerca del mecanismo de la formación de las picaduras o películas pasivas y sus procesos controlantes (Vazquez Moll et al., 1984; Szkłarska-Smiałowska, 1987). De esta forma se pueden evitar las complicaciones relativas a la dependencia del E_p con la velocidad de barrido.

RESULTADOS

I. ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES PLATINO/SOLUCIONES SALINAS CONTENIENDO GLUCOSA

Efecto de los componentes de los fluidos biológicos sobre las propiedades electrocatalíticas del platino.

De acuerdo a lo expuesto previamente la interacción química inicial entre el metal y el agua (de mar, de desecho industrial, fluidos biológicos, etc.) implica la formación de un depósito de iones inorgánicos y moléculas orgánicas adsorbidos sobre la superficie. En algunos sistemas de interés tecnológico, incluido el biomédico, dichos procesos podrían implicar alteraciones severas en los materiales constituyentes de los equipos y dispositivos. Dentro de los materiales biomédicos, los materiales implantables son unos de los más afectados por este tipo de biodeterioro.

Los materiales implantables son los sustitutos de los tejidos en caso de muerte, desgaste o deterioro accidental. El éxito de un implante depende de su aptitud para guardar la biofuncionalidad intacta durante un período extenso de operación ininterrumpida. El estudio de las interacciones metal/biofouling molecular es de sumo interés para analizar las posibles causas de interrupción de la biofuncionalidad.

El sistema Pt/fluidos biológicos conteniendo glucosa ha recibido especial atención en relación al desarrollo de celdas biocombustibles glucosa/oxígeno, implantables en el organismo como posibles impulsores de marcapasos cardíacos (Wolfson et al, 1968; Schaldach, 1969; Rao y Richter, 1974) y al desarrollo de sensores de la glucosa sanguínea (Rao et al, 1978, Gebhardt et al.; 1978; Bessman y Schultz, 1973; Stuart Soeldner et al., 1976).

En la celda biocombustible se transfieren electrones desde una molécula donora en el ánodo y, a través de una conducción metálica, al cátodo y de éste al oxígeno disuelto en sangre. Por su concentración y disponibilidad en el organismo la glucosa es una de las moléculas con mejores condiciones para actuar como combustible.

Un posible sensor de glucosa funcionaría en forma semejante a la celda biocombustible. La glucosa difundiría a través de una membrana semipermeable y sería electroquímicamente oxidada en la superficie del ánodo (Pt). Esta corriente dependería de la concentración de glucosa.

Este tipo de dispositivos está destinado a funcionar durante largo tiempo en el organismo. Por este motivo los electrodos destinados a producir la oxidación de la glucosa deben ser sumamente eficientes. Sin embargo, los estudios realizados mostraron que dichos electrodos se inactivaban progresivamente (Gebhardt et. al, 1978).

En este capítulo se describen los estudios realizados con el fin de analizar en un sistema de interés biomédico, como lo es Pt/solución de glucosa, si las propiedades electrocatalíticas del metal se ven modificadas por la adsorción de sustancias orgánicas componentes de los fluidos biológicos.

EXPERIMENTAL

Las experiencias fueron realizadas en una celda electroquímica convencional con un electrodo de trabajo de Pt brillante policristalino, de $0,16 \text{ cm}^2$ de área aparente. Como contraelectrodo y electrodo de referencia se utilizaron un alambre de Pt y un electrodo de calomel saturado a través de un capilar de Luggin. Las soluciones electrolíticas fueron preparadas con reactivos de grado analítico y agua triplemente destilada y desaireada con nitrógeno de alta pureza. Se utilizaron soluciones tampón de fosfatos ($\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{K}_2\text{HPO}_4$) $\text{pH}=7$, de fuerzas iónicas 0,05 y 0,2 M.

El electrodo de trabajo fue perturbado con diferentes programas potencial/tiempo. El programa descrito en la Fig. 5(a) se realiza a fin de partir de una superficie reproducible, removiendo las especies orgánicas adsorbidas y proveer al electrodo de una película de óxido ($E_1=1,2 \text{ V}$) y luego eliminar los restos de oxígeno molecular producidos en el paso anterior ($E_2=0,8 \text{ V}$). Posteriormente el potencial se fija en un valor negativo E_{ad} comprendido entre $-0,2 \text{ V}$ y $-0,6 \text{ V}$ a fin de permitir la adsorción de la glucosa durante un tiempo t_{ad} . Transcurrido t_{ad} se realiza un barrido lineal de potencial potenciodinámico a $0,1 \text{ V/s}$ hasta $0,8 \text{ V}$ o $1,0 \text{ V}$ para luego invertir el sentido de barrido y retornar al potencial inicial.

El programa descrito por la Fig. 5(b) se lleva a cabo a fin de observar el efecto de barridos de potencial sucesivos en la zona de electrosorción de hidrógeno. Se utilizaron distintos límites anódicos (E_3) de barrido.

Se efectuaron también medidas de potencial a circuito abierto. Éstas se llevaron a cabo luego de remover las especies orgánicas adsorbidas y posteriormente de barrer linealmente el potencial a 0,01 V/s hasta el límite anódico donde se procedía a abrir el circuito.

RESULTADOS

En la Fig. 6 se observa en línea cortada el voltamperograma correspondiente al Pt en el electrolito base. La región comprendida entre -0.6 y -0.2 V corresponde a la adsorción/desorción (barridos en sentido catódico y anódico respectivamente) de hidrógeno sobre Pt, mientras que a potenciales más anódicos se forma y se reduce (barridos en sentido anódico y catódico) el óxido. Entre la desorción del hidrógeno y la formación del óxido se extiende una zona de corriente constante denominada región de la doble capa eléctrica. En línea llena se muestra el voltamperograma correspondiente a la electrooxidación de glucosa sobre Pt. Durante el barrido de potencial en sentido anódico se forman tres picos de corriente anódica (I, II, III) que se relacionan con la electroadsorción y electrooxidación de la glucosa. La comparación de los voltamperogramas obtenidos en presencia y ausencia de glucosa permite la evaluación de los cambios relacionados con la interfase Pt/electrolito. El pico I se encuentra en la región de potencial de la electrosorción de adátomos de hidrógeno, el pico II en la porción más anódica de la región de la doble capa eléctrica y el pico III aparece en la región donde el Pt se cubre con una monocapa de oxígeno. Durante el barrido en sentido catódico puede observarse que inmediatamente después de la reducción de la capa de óxido de Pt, aparecen un pico (V) y un hombro (IV). Si t_{ad} se incrementa, la altura del pico I se reduce (Fig. 7)

En la Fig. 8(a) se muestran los sucesivos voltamperogramas en la región de electrosorción de hidrógeno obtenidos luego de aplicar el programa de perturbación descrito en la Fig. 5(b). Puede observarse que al realizar el segundo ciclo de barrido las corrientes anódica y catódica han disminuido a valores inferiores de las del electrolito base (Fig. 6). Los sitios activos del electrodo han sido bloqueados. Si se incrementa el límite anódico de barrido (Fig. 8b) el bloqueo disminuye.

La Fig. 9 muestra voltamperogramas realizados aplicando el programa de perturbación de la Fig. 5 (a) a dos soluciones de idéntico pH y concentración de glucosa, pero cuya concentración de iones fosfato era distinta (fuerzas iónicas 0,2 y

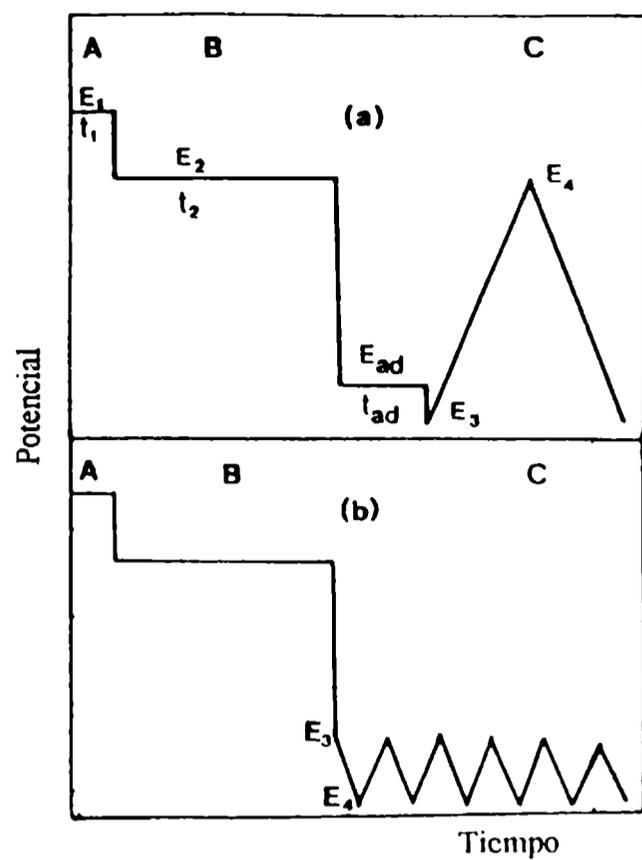


Fig. 5: Programas de perturbación potencial/tiempo. $\Lambda=10$ s; $B=180$ s; $C=$ barrido de potencial triangular.

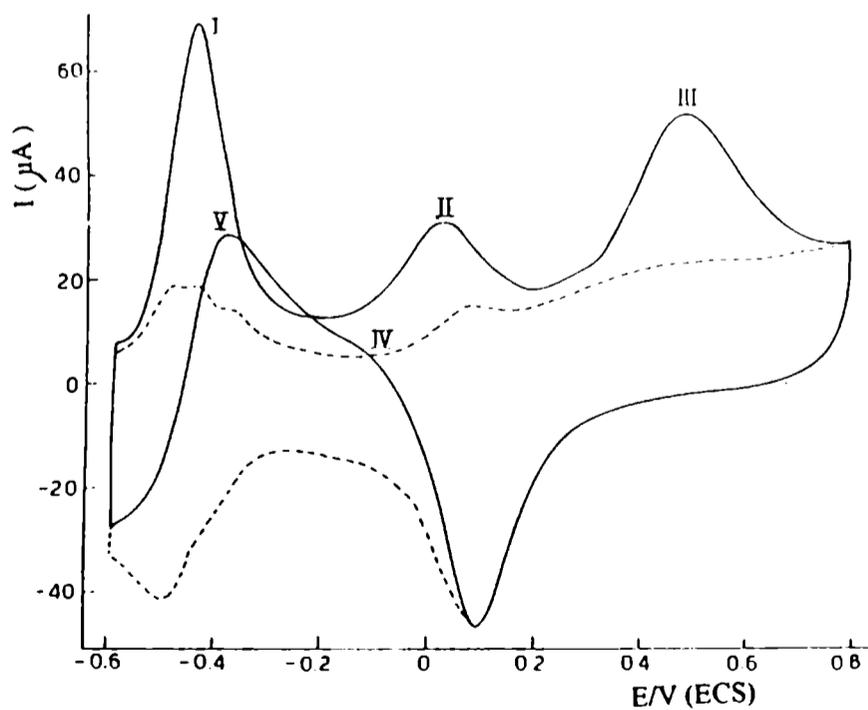


Fig. 6: Voltamperogramas registrados a una velocidad de barrido de $0,1$ V/s: a) en una solución de glucosa (—); b) en el electrolito base (---); después de aplicar el programa de perturbación mostrado en la Fig. 1a ($E_{ad} = -0,6$ V; $t_{ad} = 10$ s).

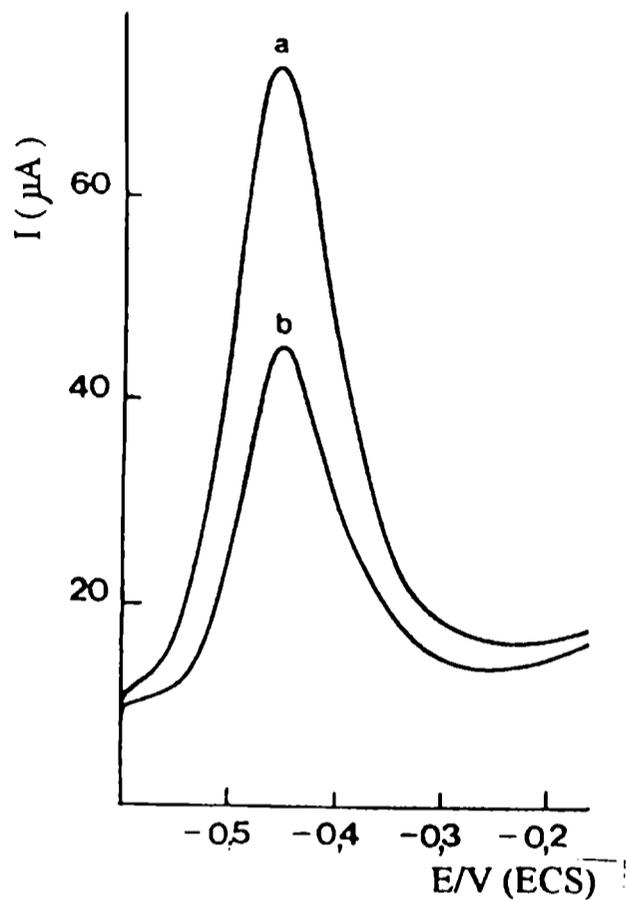


Fig. 7: Voltamperogramas registrados en una solución 0,03 M de glucosa, durante el barrido de potencial en sentido anódico a 0,1 V/s correspondiente al programa de perturbación descrito en la Fig. 5.a.: $E_{ad} = -0,6$ V; $t_{ad} = 10$ s (curva a); $t_{ad} = 60$ s (curva b).

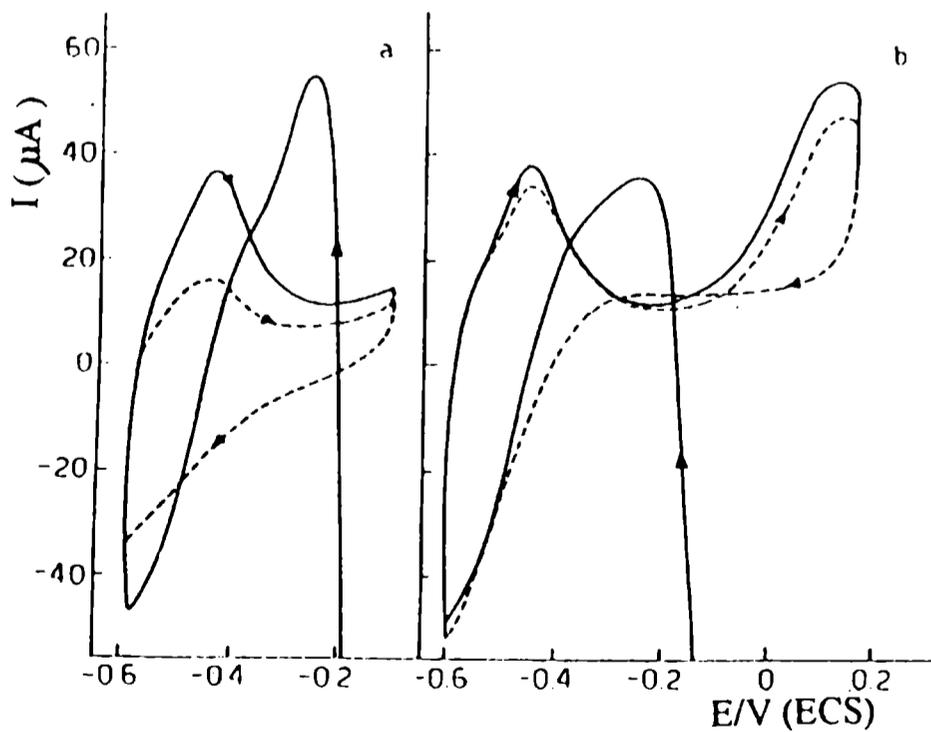


Fig. 8: Voltamperogramas registrados luego de aplicar el programa de perturbación descrito en la Fig. 5.b. (—) 1er ciclo; (- - -) 2do ciclo. a) $E_3 = -0,1$ V; $E_4 = -0,6$ V; b) $E_3 = 0,2$ V; $E_4 = -0,6$ V.

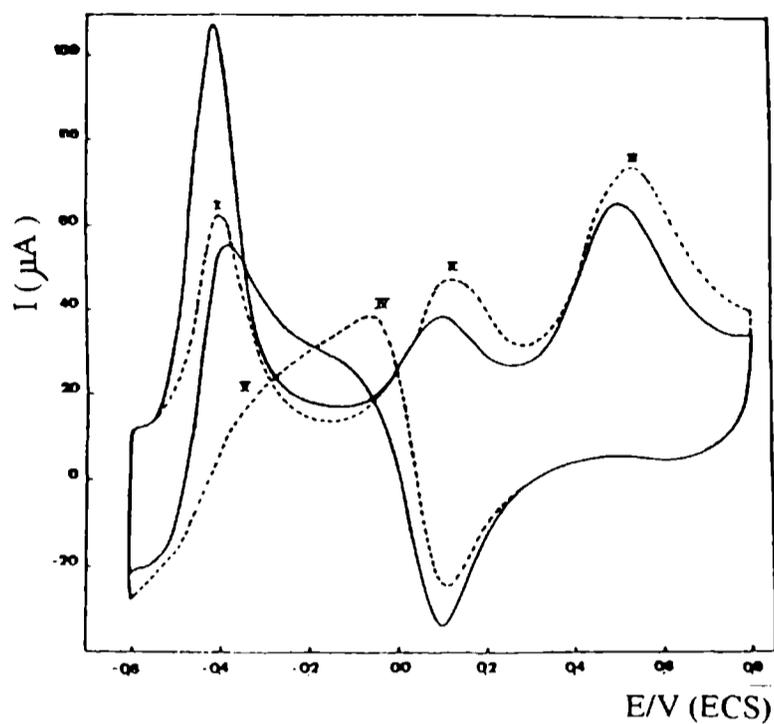


Fig. 9: Voltamperogramas registrados luego de aplicar el programa de perturbación descrito en la Fig. 5.a. ($E_{ad} = -0,6$ V; $t_{ad} = 10$ s) utilizando distintas soluciones buffer de fosfatos con glucosa 0,1 M: (—) $I = 0,05$ M (capacidad reguladora = 9,5); (.....) $I = 0,20$ M (capacidad reguladora = 2,7).

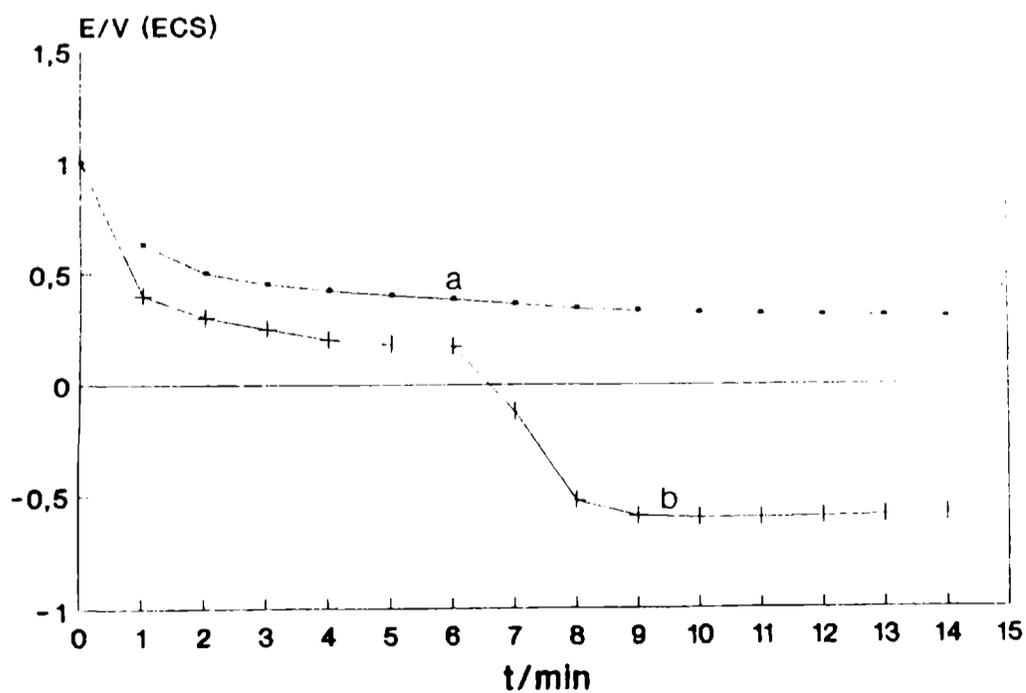


Fig. 10: Diagrama potencial a circuito abierto vs tiempo: a) solución buffer de fosfatos; b) solución buffer de fosfatos + 2 g/l de glucosa.

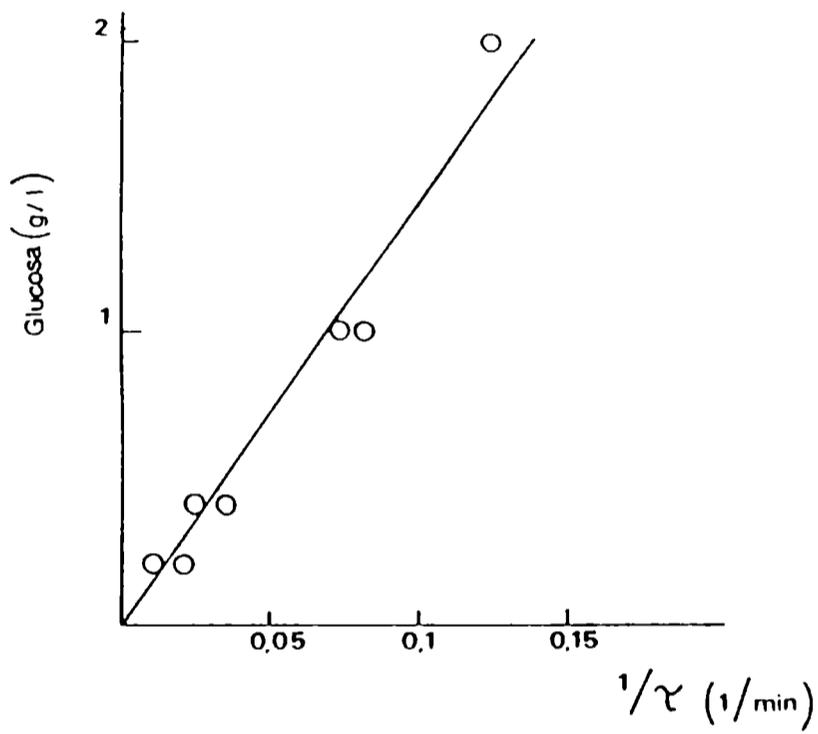


Fig. 11: Diagrama concentración de glucosa vs $1/\tau$ (τ = tiempo en que se produce la caída del potencial en la curva b de la Fig. 10) para soluciones buffer de fosfatos + glucosa.

0,05). Puede observarse que mientras la altura de los picos I y V disminuye a menor concentración de iones fosfatos, la corriente de los picos II, III y IV aumenta. Si la fuerza iónica se eleva a 1 M mediante el agregado de K_2SO_4 a ambos electrolitos, el efecto sigue observándose.

En la Fig. 10, se representa la variación del potencial a circuito abierto para el electrolito base y para la solución de glucosa luego de realizar el barrido de potencial en sentido anódico hasta 1,0 V. Puede observarse que en el caso de la solución base, el potencial decrece monotonamente con el tiempo. Cuando la solución contenía glucosa en cambio, el potencial decrecía más rápidamente que el anterior, para luego caer abruptamente hasta valores de -0,6 V aproximadamente. Para concentraciones bajas de glucosa (hasta 0,02 M) existe una relación aproximadamente lineal entre dicha concentración y la inversa del tiempo de relajación transcurrido entre la apertura del circuito y la caída abrupta de potencial (Fig. 11).

DISCUSIÓN

Los voltamperogramas de las Figs. 7 y 8a muestran un decrecimiento de la corriente de electrooxidación de la glucosa con el aumento de t_{ad} y con el número de barridos sucesivos de potencial. Esto daría cuenta de un progresivo bloqueo del área activa del Pt causada por los residuos de electroadsorción de la glucosa. Dichos productos intermediarios permanecen adsorbidos hasta que el valor del potencial supera un cierto umbral que está asociado a la activación del electrodo (Mele et al., 1982, Mele et al., 1986), como pudo observarse al incrementar el límite anódico de barrido.

La electroadsorción de glucosa, que conduce a la formación de diferentes especies adsorbidas, está relacionada con la gran carga anódica asociada al intervalo de potenciales del pico I de acuerdo a:



siendo G=glucosa y (Rad) residuos de la electroadsorción de glucosa sobre Pt, que luego de desorben en el intervalo de potenciales correspondiente a los picos II y III a través de reacciones de electrooxidación del tipo:



La evolución del potencial a circuito abierto muestra que existiría una reacción tipo corrosión, sin pasaje de corriente, oxidación de glucosa/reducción de óxido de Pt similar a la observada para otros compuestos orgánicos (Hauffe y Heitbaum, 1978). El descenso de potencial puede asociarse entonces, a la reducción del óxido de Pt que se ve acelerada en presencia de glucosa (Mele et al., 1981). El potencial cae abruptamente hasta un valor que corresponde al equilibrio entre electroadsorción y electrodesorción de hidrógeno sobre Pt después de un tiempo de relajación que depende inversamente de la concentración de glucosa.

La variación de la respuesta electroquímica de la glucosa frente a la composición iónica del medio da cuenta de la interferencia de los iones en la reacción de electrooxidación. Si se tienen en cuenta los datos de adsorbabilidad de iones fosfatos sobre metales (Vakhidov y Bakirov, 1975) podría decirse que tanto las moléculas de glucosa como los iones fosfatos compiten por los sitios activos del Pt. por otra parte, la mayor o menor capacidad reguladora de los mismos tiene influencia en las reacciones (1) y (2).

Puede concluirse entonces que un metal noble como el Pt, sumergido en una solución conteniendo componentes de los fluidos biológicos, sufre alteraciones en su comportamiento electroquímico debido a la adsorción de moléculas orgánicas e iones sobre su superficie. En este caso su eficiencia como electrocatalizador se ve reducida y su respuesta electroquímica se ve condicionada por dichos procesos de adsorción que conducen a la formación del biofouling molecular.

II. ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES PLATA/PLASMA HUMANO Y PLATA/SOLUCIONES SALINAS CONTENIENDO CLORUROS Y SULFUROS

Efecto de los componentes de un fluido biológico sobre la resistencia a la corrosión de la plata

La plata es empleada como un componente de aleaciones dentales ternarias y cuaternarias con base de oro o paladio para restauraciones dentales (Eichner, 1983). En ellas se ha detectado que aparecen mayores problemas de envejecimiento estético cuanto mayor contenido de plata poseen (Vaidyanathan y Prasad, 1978). Es también utilizada como material de relleno que permite obturar los canales de las raíces dentales, constituyendo lo que se conoce como un implante intracanal (Zielke et al., 1975) .

Los conos de plata han sido usados especialmente en la obturación de canales finos y curvos debido a que son fácilmente manipulables y presentan una visión radiográfica clara. Sin embargo, estudios recientes muestran que cuando la plata toma contacto con los tejidos y sus fluidos, se deteriora generando productos de corrosión citotóxicos, reacciones de inflamación y una obturación defectuosa (Goldberg, 1982). Además se detectaron trazas de plata y azufre en la biopsia de los tejidos circundantes.

El objetivo de este trabajo es estudiar el comportamiento electroquímico de la plata y los productos de corrosión formados en plasma y soluciones neutras para explicar las posibles causas de la corrosión de los conos dentales y de la pigmentación y opacado de las aleaciones con plata.

EXPERIMENTAL

Para la realización de las experiencias se empleó una celda electroquímica de vidrio Pyrex convencional, termostalizada a 37 C. El electrodo de trabajo era un cilindro de plata de alta pureza incluido en una resina epoxi (Araldite,MR), dejando un área circular expuesta de 4,9 mm². El contraelectrodo era de Pt platinado y el electrodo de referencia utilizado fue un ECS a través de un capilar de Luggin.

Antes de cada experimento el electrodo era pulido con papel esmeril hasta el

grado 600 y después con alúmina (1 μm). Finalmente era lavado con agua y desengrasado con etanol. Previo a cada experiencia potenciodinámica se mantenía al electrodo a -1,1 V durante 2 min a fin de reducir los óxidos superficiales y partir de una superficie reproducible. A partir de allí se barría el potencial en sentido anódico a 0,02 V/s hasta 0,5 V para luego invertir el sentido de barrido y retornar al potencial inicial (barrido triangular de potencial) y reiniciar el barrido hasta obtener un registro repetitivo. Los transitorios de corriente eran realizados luego de aplicar el siguiente pretratamiento al electrodo: potenciostatación a -1,1 V durante 1 min y luego a -0.2 V durante 10 s para luego aplicarle el potencial seleccionado para el transitorio potenciostático.

Se realizaron también experimentos utilizando la técnica del electrodo de disco-anillo. En este caso se empleó un disco de Pt cubierto con una película de plata (0,125 cm^2) y un anillo de Pt (0,035 cm^2 con una eficiencia de colección de 0,25). Las velocidades de rotación variaron entre 500 y 3000 rpm. Para demostrar la formación de especies solubles durante los ensayos potenciostáticos o potenciodinámicos el electrodo de anillo fue mantenido en un valor de potencial comprendido entre -0,15 y 0,35 V.

Los medios electrolíticos utilizados fueron: 0,09 M NaCl y plasma humano citratado. También se utilizaron mezclas 0,09 M NaCl + 10^{-3} M Na₂S. Las soluciones fueron preparadas con reactivos analíticos y agua triplemente destilada. El pH se ajustó en 7,5.

Las observaciones por MEB se realizaron utilizando un microscopio Philips SEM 500 complementado con EDXA. Los análisis por microsonda se llevaron a cabo en un equipo CAMECA MS46.

RESULTADOS

Los materiales de relleno utilizados en la terapia endodóntica presentan en mayor o menor grado fallas en la obturación de los canales de la raíz dental. En el caso de la plata, los conos removidos están ennegrecidos y corroídos (Figs. 12 y 13). Los materiales de aleaciones conteniendo plata también se deterioran.

La Fig. 14 (curva a) muestra el voltamperograma correspondiente a un

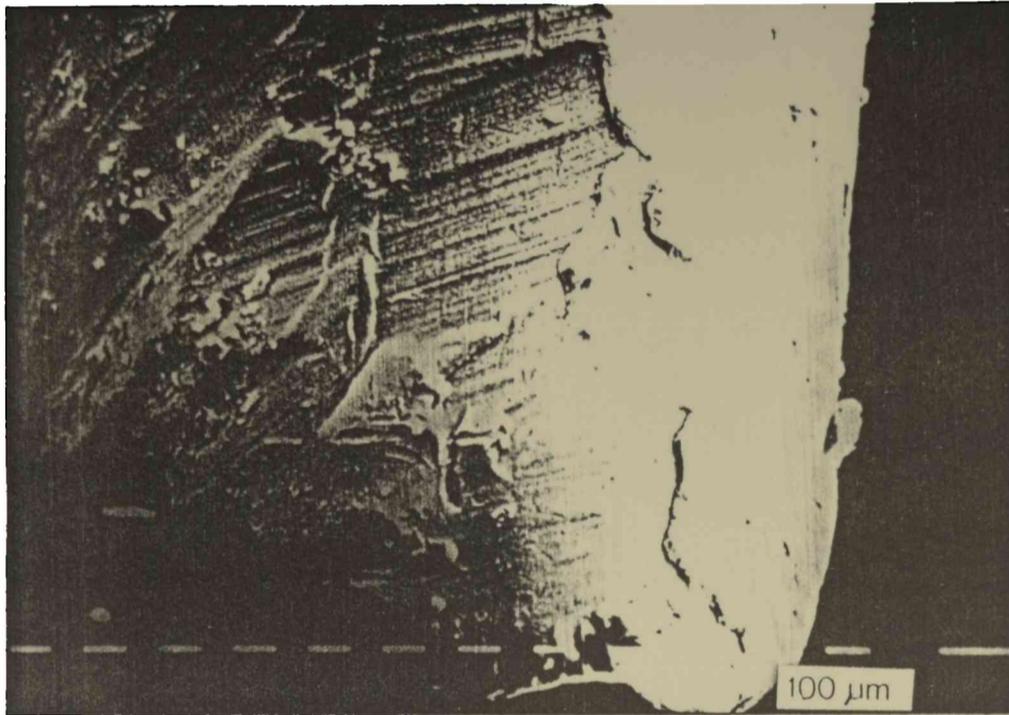


Fig. 12: Microfotografía correspondiente a la superficie de un cono de Ag utilizado para implantes endodónticos antes de procederse a su implante en la raíz dental.

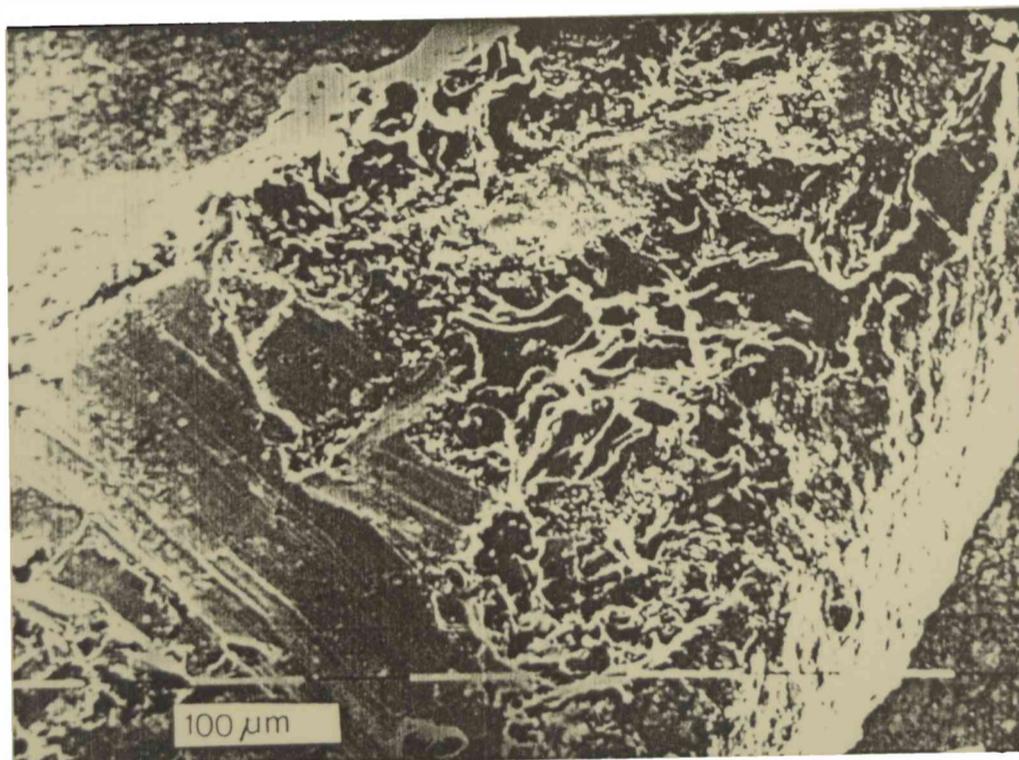


Fig. 13: Microfotografía correspondiente a la superficie de un cono de Ag utilizado para implantes endodóntico después de haber sido implatado en la raíz dental.

electrodo de plata sumergido en la solución de NaCl. Puede observarse que la corriente permanece en valores muy bajos hasta 0,07 V. A partir de este potencial la corriente asciende formando un pico en 0,35 V. Durante el barrido en sentido catódico la densidad de corriente permanece anódica hasta 0,05 V para luego decrecer y formar un pico catódico a -0,37 V. Cuando el electrodo es retirado de la solución la superficie del mismo se muestra cubierta por una película gris oscura.

La microscopía electrónica de barrido muestra (Fig. 15) que cuando el potencial del electrodo se fija en 0,07 V la superficie del mismo aparece parcialmente cubierta por islas de material precipitado. A través del EDXA se visualizaron señales de Cl y Ag en dichas zonas. Al incrementar el valor del potencial o del tiempo de exposición el electrodo se presenta cubierto por una capa oscura, porosa (Fig. 16). Si esta capa es removida cuidadosamente, puede observarse que el electrodo presenta ataque localizado en forma de picaduras pequeñas.

Los estudios llevados a cabo mediante el electrodo de disco y anillo rotatorio demostraron (Fig. 17) que cuando se barre el potencial del disco en el sentido anódico-catódico la corriente en el anillo (potenciostatizado por debajo del valor del equilibrio Ag/AgCl) se hace catódica simultáneamente con la formación de AgCl sobre el disco. Esta corriente catódica está ligada a la formación de un depósito de plata sobre el anillo. Cuando se realiza el barrido en sentido catódico en el disco, la corriente del anillo cambia de catódica a anódica cuando se produce la electroreducción del AgCl sobre el disco. Dicha reacción origina un incremento de la concentración local de cloruros. A causa de ello la plata recientemente depositada sobre el anillo se electro-oxida a AgCl. Finalmente cuando cesa la electroreducción de AgCl sobre el disco la concentración de cloruros vuelve a decrecer y parte del AgCl formado se reduce.

Las experiencias realizadas adicionando Na₂S a la solución de AgCl muestran que inmediatamente después de la inmersión del electrodo en la solución se forma una película de Ag₂S tornasolada. Los voltamperogramas revelan la formación de una película de Ag₂S a potenciales muy catódicos. Puede observarse en ellos (Fig. 18) que la corriente se incrementa en el potencial de -0,75 V dando lugar a un pequeño pico para luego mantenerse en un valor constante, hasta llegar al valor de potencial en que la película de AgCl comienza a formarse. La película de Ag₂S formada es brillante y compacta, exhibiendo un aspecto tornasolado. Cuando este film es

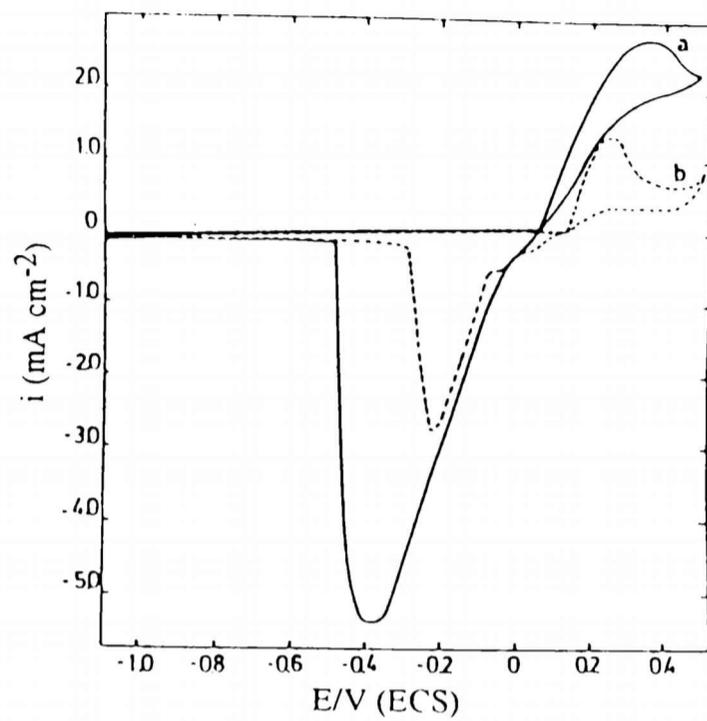


Fig. 14: Voltamperograma correspondiente a barridos de potencial triangulares repetitivos realizados a 0,02 V/s en una solución 0,09 M de NaCl (curva a) y en plasma humano (curva b).

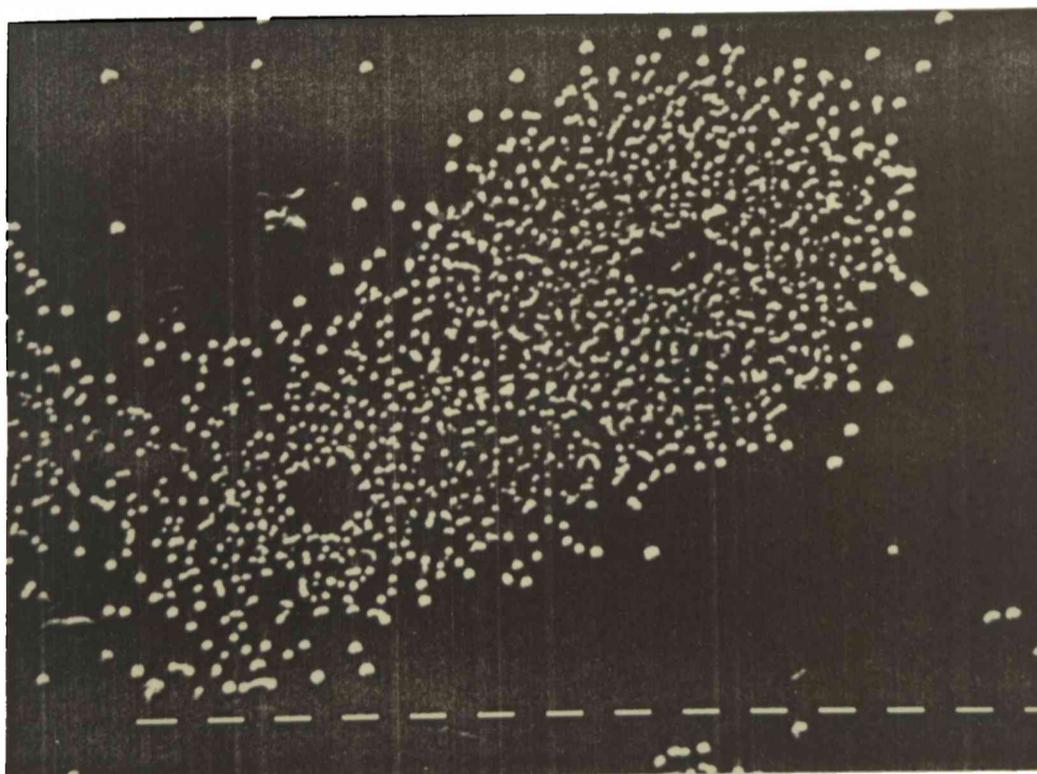


Fig. 15: Microfotografía correspondiente a un electrodo de Ag luego de anodizarlo en una solución 0,09 M de NaCl en un potencial $E=0,07$ V durante 30 min (3200X).



Fig. 16: Microfotografía correspondiente a un electrodo de Ag luego de anodizarlo en una solución 0,09 M de NaCl en un potencial $E=0,07$ V durante 60min (3200X).

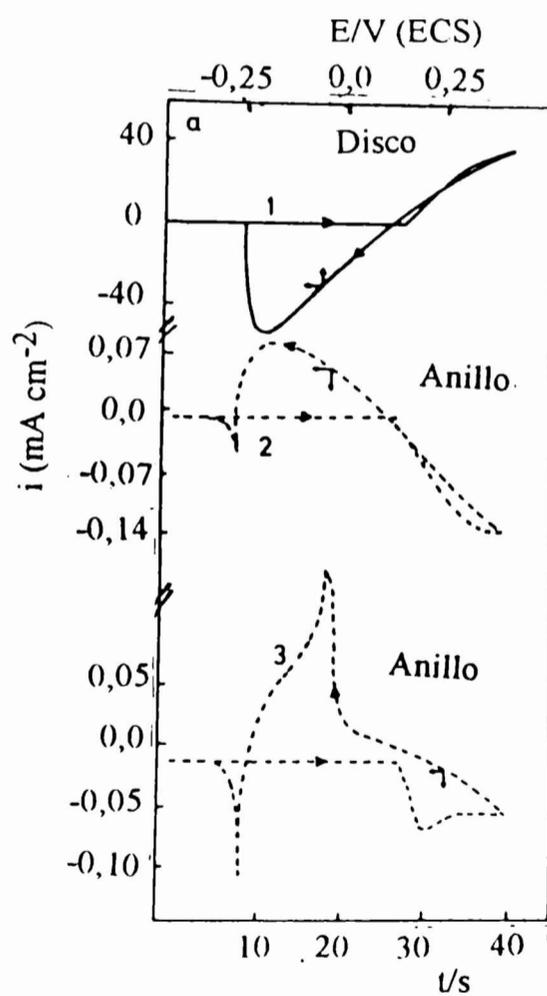


Fig. 17: Voltamperogramas obtenidos utilizando un electrodo de disco y anillo a una velocidad de rotación de 3000 rpm con una solución 0,009 M de NaCl; curva 1: disco a $v=0,02$ V/s; curva 2: anillo potenciostatizado a $E=-0,1$ V; curva 3: anillo potenciostatizado a $E=0,1$ V.

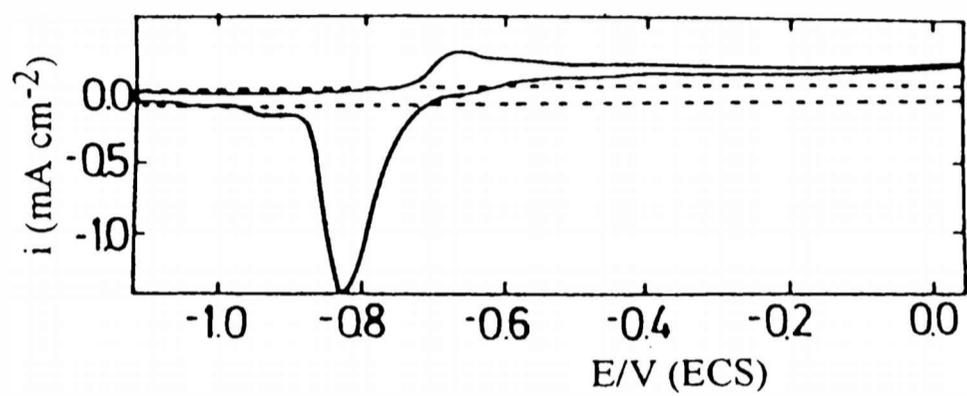


Fig. 18: Voltamperograma correspondientes a barridos triangulares de potencial repetitivos a 0,02 V/s en una solución 0,09 M de NaCl (- - -), en una solución 0,09 M de NaCl + 0,001 M Na₂S (—).

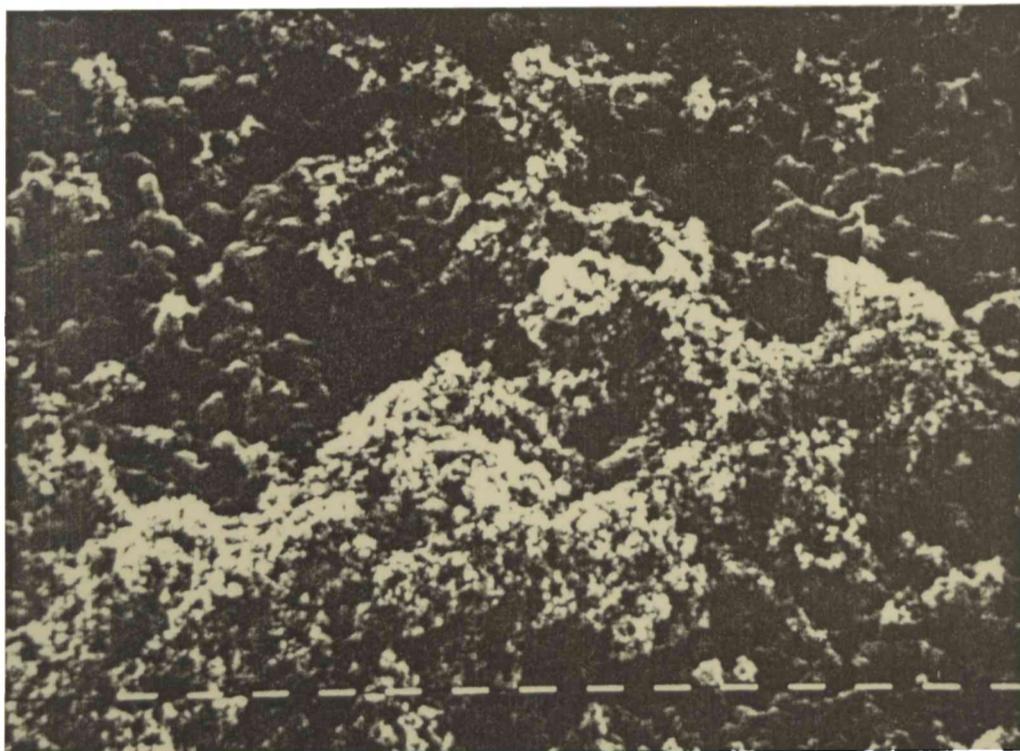


Fig. 19: Microfotografía correspondiente a la película formada después de anodizar un electrodo de Ag a 0,25 V durante 30 min en una solución 0,09 M NaCl + 0,001 M Na₂S. Las barras indican 10 μ .

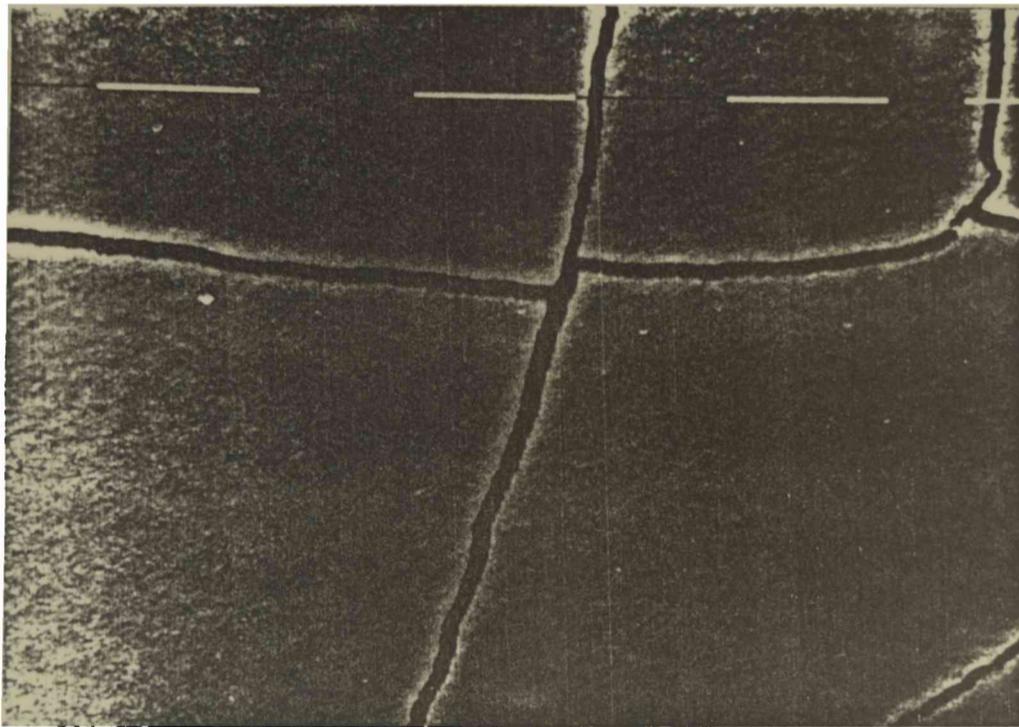


Fig. 20: Microfotografía correspondiente a la película formada después de anodizar un electrodo de Ag a 0,3 V durante 30 min en plasma humano. Las barras indican 10 μm .

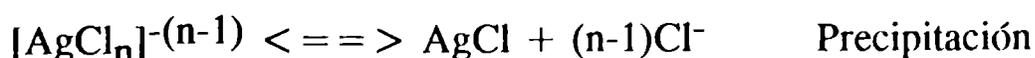
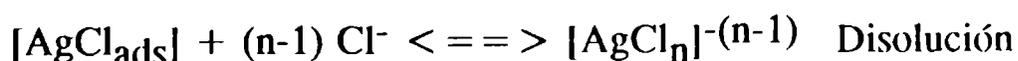
removido la superficie del electrodo se ve atacada con pequeñas picaduras. Cuando el electrodo se mantiene en 0,25 V se observa la formación de una película mixta (Fig. 19). De acuerdo al análisis por EDXA las zonas claras presentan mayor proporción de Ag₂S mientras que en las oscuras domina el AgCl.

Los voltamperogramas realizados utilizando plasma humano citratado muestran una forma similar a aquéllos registrados utilizando soluciones de NaCl (Fig. 14, curva b). Sin embargo, la corriente registrada es menor y el incremento de la corriente en sentido anódico ocurre a potenciales más positivos. La observación microscópica de las muestras potenciostatizadas a 0,30 V revela la formación de una película compacta resquebrajada por efecto de la deshidratación (Fig. 20). A través de análisis por EDXA y microsonda se detectó la presencia de carbono, plata y cloro.

DISCUSION

Los resultados previamente descritos muestran que la presencia de los iones cloruro y sulfuro sería la causa principal del deterioro biológico de la plata.

Las experiencias realizadas mediante la técnica de disco-anillo y las observaciones microscópicas, probaron que la plata en soluciones de cloruro se ataca localmente formando compuestos solubles, para luego precipitar como AgCl de acuerdo a las reacciones siguientes:



El equilibrio inestable Ag/AgCl se puede desplazar en uno u otro sentido de acuerdo a la concentración local de iones dando lugar a la precipitación de AgCl o Ag que ennegrecen la superficie. Teniendo en cuenta que las proteínas plasmáticas se adsorben sobre los materiales extraños al organismo, es probable que su adsorción sobre la superficie de la plata dificulte la adsorción de iones cloruro y cambie la morfología de la película. Esto justificaría el decrecimiento de la corriente observado

cuando se utilizó plasma como electrolito con respecto a las obtenidas utilizando soluciones de AgCl.

En soluciones conteniendo Na_2S se forma Ag_2S inmediatamente después de la inmersión del electrodo en la solución a potenciales muy catódicos (a partir de -0.75 V, Fig. 18). Las películas mixtas se forman a potenciales más altos pero en todos los casos la superficie se ennegrece y corroe, perdiendo su brillo original.

Las principales fuentes de azufre en el organismo son la metionina, heparina, insulina, etc. Consecuentemente, el azufre debe llegar a la interfase canal-cono a través de los fluidos orgánicos. Esto está de acuerdo con el hecho de que las concentraciones más altas de azufre en el análisis por EDXA de los conos removidos de los dientes decrecía en el sentido punta-base. El análisis por difracción de rayos X de conos implantados reveló que los compuestos de azufre formados eran sulfuro de plata y sulfato de plata. Estos productos de corrosión son altamente citotóxicos (Brady y del Rio, 1975). Por lo tanto, la disolución de la plata en presencia de sulfuros es perjudicial tanto para la resistencia a la corrosión del implante como para la actividad biológica.

Los resultados obtenidos en soluciones fisiológicas sugieren que el comportamiento electroquímico del metal está principalmente controlado por cloruro y sulfuro que incrementan la disolución metálica. Sin embargo las fuertes interacciones del metal con las proteínas adsorbidas modifican el proceso de disolución cambiando las características estructurales de las películas formadas.

Debido a la presencia constante de iones cloruro y eventualmente sulfuro en la saliva es importante extremar las precauciones a fin de evitar que la plata se ponga en contacto con los mismos. A tales efectos la superficie del cono debe ser cubierta con cemento en forma homogénea y continua durante la implantación. Cualquier fractura o discontinuidad será un lugar propicio para que los iones agresivos tomen contacto con la plata, incrementando los riesgos de la corrosión.

Por otra parte, se sabe que las personas que tienen una dieta rica en sulfuros presentan una fuerte pigmentación en las restauraciones dentales. Por lo tanto una higiene bucal inadecuada produciría acumulación de sulfuro en la placa dental y facilitaría el deterioro estético de las mismas.

III. ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES AL/PLASMA O SANGRE HUMANOS Y SOLUCIONES SALINAS CONTENIENDO CLORUROS

Efecto de la disolución metálica sobre los componentes de los fluidos biológicos. Efecto de los componentes de los fluidos biológicos sobre la disolución metálica.

El aluminio puro ha sido mencionado en varios trabajos de investigación como un material adecuado para su posible uso dentro del cuerpo humano (Sawyer, 1978; Rao et al, 1974; Weidlich, 1976). Estudios *in vitro* han mostrado que es factible su uso como ánodo implantable en las fuentes de energía de los marcapasos cardíacos, especialmente debido a su baja velocidad de corrosión. Por otra parte, como mantiene su carga negativa al ser sumergido en el fluido biológico, es considerado antitrombogénico (Sawyer, 1978). Sin embargo, las experiencias *in vivo* han mostrado que los tejidos que circundan el implante se inflaman (Weidlich et al., 1976) indicando que existen interacciones con el metal o sus productos de corrosión.

El propósito de este estudio es evaluar las interacciones Al/plasma, especialmente Al/proteínas plasmáticas por medio de experimentos *in vitro* utilizando sangre y plasma humano citratados. Se evaluarán las interacciones en ambos sentidos, es decir, se estudiarán tanto los efectos que el biofouling molecular provoca sobre el Al como los efectos que el Al ejerce sobre las proteínas plasmáticas.

EXPERIMENTAL

Se utilizó una celda electroquímica convencional de vidrio Pyrex termostalizada a 37 C. Los electrodos de trabajo eran cilindros de aluminio 99,99 % cuya área expuesta era de 1 cm². Antes de su uso fueron sumergidos en un baño de ácidos nítrico-fosfórico y acético (5:80:15) por 1 min a 100 C a fin de pulir su superficie. Posteriormente fueron lavados con agua destilada y desengrasados con acetona. El contraelectrodo era un alambre de Pt y los potenciales se midieron contra un ECS a través de un capilar de Luggin.

Las curvas de polarización se realizaron comenzando a -1.0 V a una velocidad de 10 mV/min en la dirección anódica. Se registraron el PCA en función del tiempo y transitorios de corriente a un potencial constante de -0,63 V. Cuando las experiencias se extendían por un período superior a 4 h los elementos empleados eran previamente esterilizados en un autoclave.

Se utilizaron soluciones electrolíticas de diferente composición: solución isotónicas de NaCl (0,9 %); solución isotónica de NaCl + glucosa (0,45 %) + citrato de sodio (0,48 %); plasma humano glucosado (0,45 %) y citratado (0,48 %) y sangre humana glucosada (0,45 %) y citratada (0,48 %).

La desnaturalización proteica se estudió a través de inmunoelectroforesis convencional en colaboración con el Dr. F.R. Goñi del Dto. de Análisis Clínicos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Buenos Aires. Se utilizó acetato de celulosa como material de soporte (Cellogel). Las muestras se ensayaron contra suero antihumano total de conejo (Dako).

La observación microscópica de las muestras fue realizada utilizando un microscopio electrónico Philips 500 que incluía EDXA. El análisis de las muestras por microsonda se realizó en un equipo CAMECA MS46.

RESULTADOS

En la Fig. 21 se muestra una curva de polarización típica del aluminio en una solución 0,9 % NaCl deaireada con nitrógeno a fin de remover el oxígeno. Puede observarse una región pasiva que se extiende hasta $-0,71 \pm 0,01$ V. A partir de ese valor de potencial (conocido como potencial de picado, E_p) la corriente crece bruscamente debido a la ruptura de la película pasiva. La observación microscópica de las muestras revela la presencia de picaduras cristalográficas distribuidas aleatoriamente sobre la superficie. Se obtuvieron valores semejantes del E_p en soluciones aireadas y en soluciones 0,9% de NaCl a las que se adicionó citrato de sodio y glucosa en idéntica concentración que el plasma (0,48 % y 0,45 % respectivamente) (Tabla V). A diferencia de las anteriores, los potenciales de picado hallados en el plasma citratado se desplazaron en la dirección anódica ($-0,66 \pm 0,02$ V). Sin embargo, no se observaron cambios en la morfología de las picaduras cuando se utilizaron fluidos biológicos (sangre o plasma) como electrolitos (Fig. 22).

Simultáneamente con el proceso de picado se observó que un precipitado amorfo no adherente cubría la superficie atacada cuando se utilizaban soluciones salinas. En el caso del plasma humano se formaba un precipitado mixto que incluía sustancias orgánicas. El análisis por EDXA revelaba la presencia de los elementos aluminio y cloro. Utilizando una

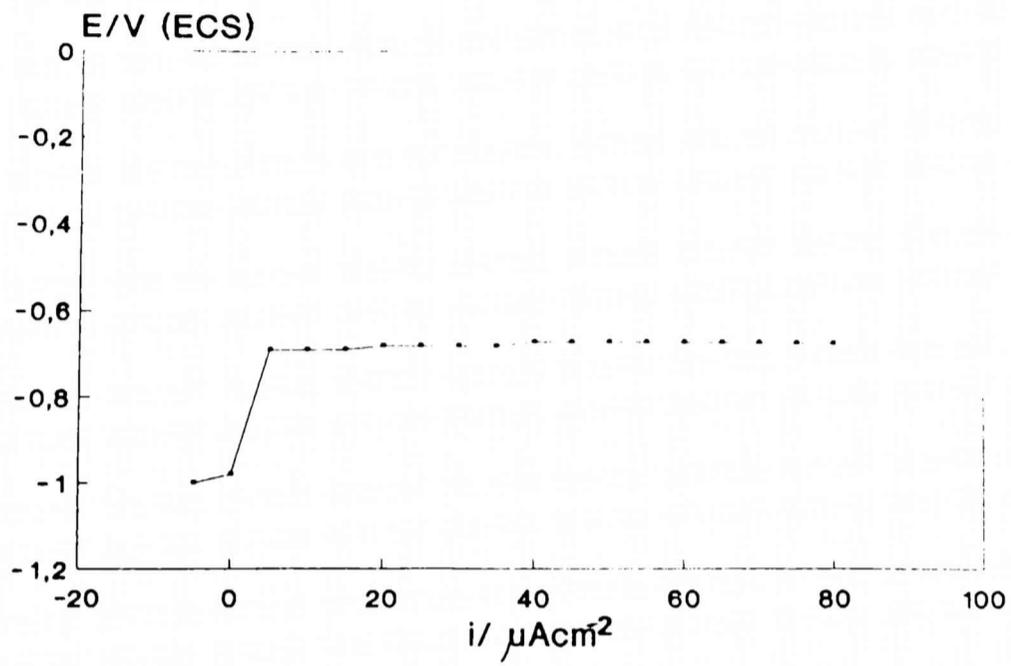


Fig. 21: Curva de polarización anódica correspondiente al aluminio en solución de 9 g/l NaCl, velocidad de barrido: 10 mV/min.

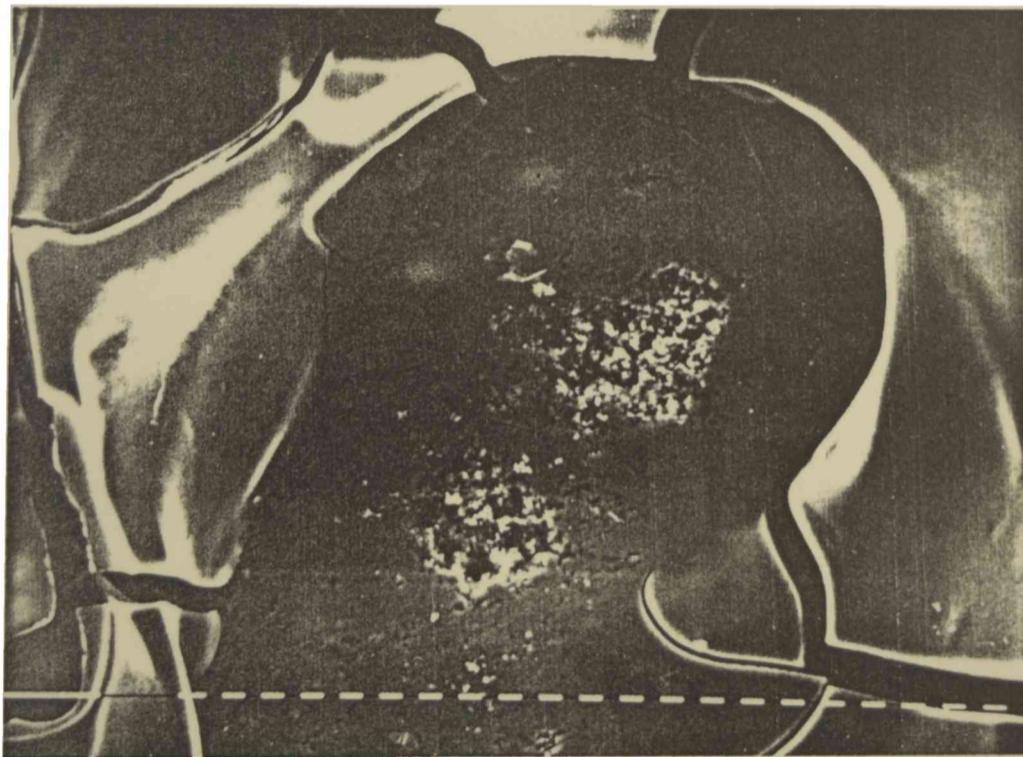


Fig. 22: Microfotografía obtenida a través de MEB correspondiente al aluminio en plasma humano, potenciostatizado a -0,63 V. Se puede observar el picado y el depósito biológico que lo rodea. La barra equivale a 100 μm .

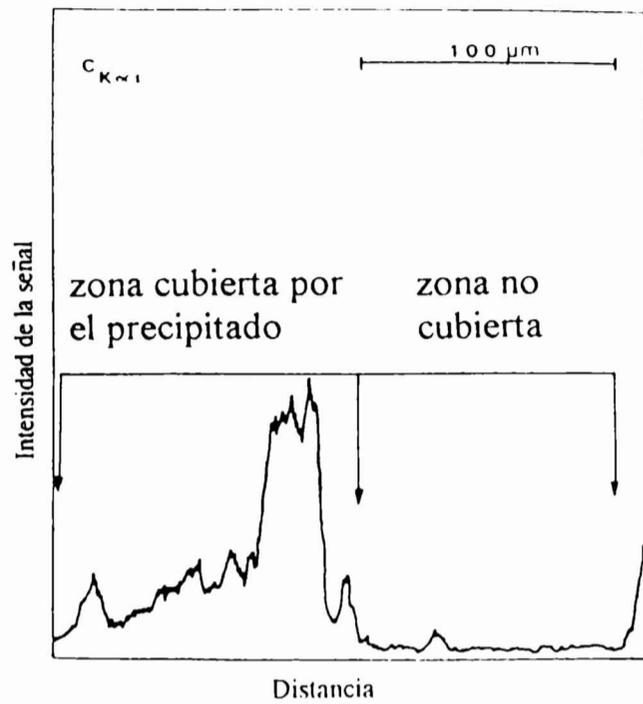


Fig. 23: Señal de carbono ($K\alpha_1$) correspondiente al aluminio potenciostatizado a $-0,63$ V en plasma humano en regiones con y sin precipitados biológicos.



Fig. 24: Inmunoelectroforesis: a) y c) suero normal, b) y d) precipitado formado sobre aluminio potenciostatizado a $-0,63$ V (suspendido en solución fisiológica).

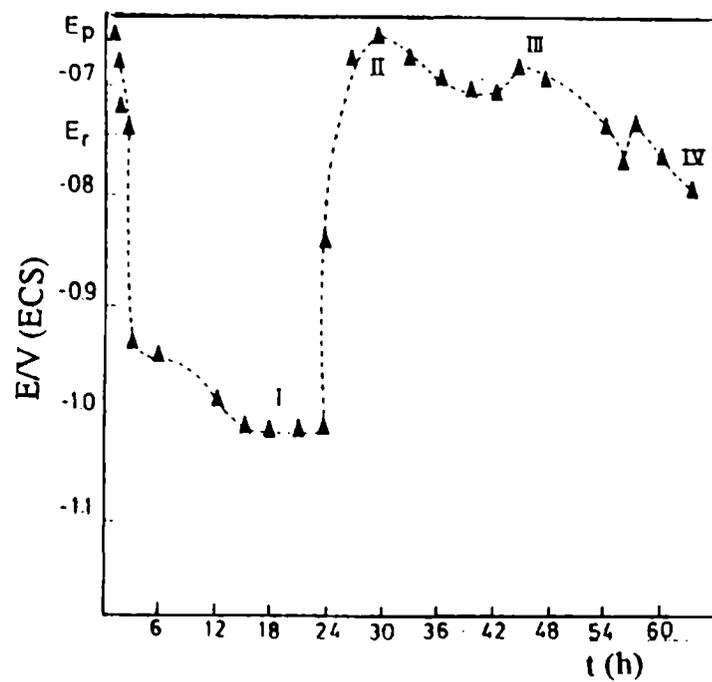


Fig. 25: Potencial a circuito abierto vs. tiempo correspondiente al aluminio en plasma humano.

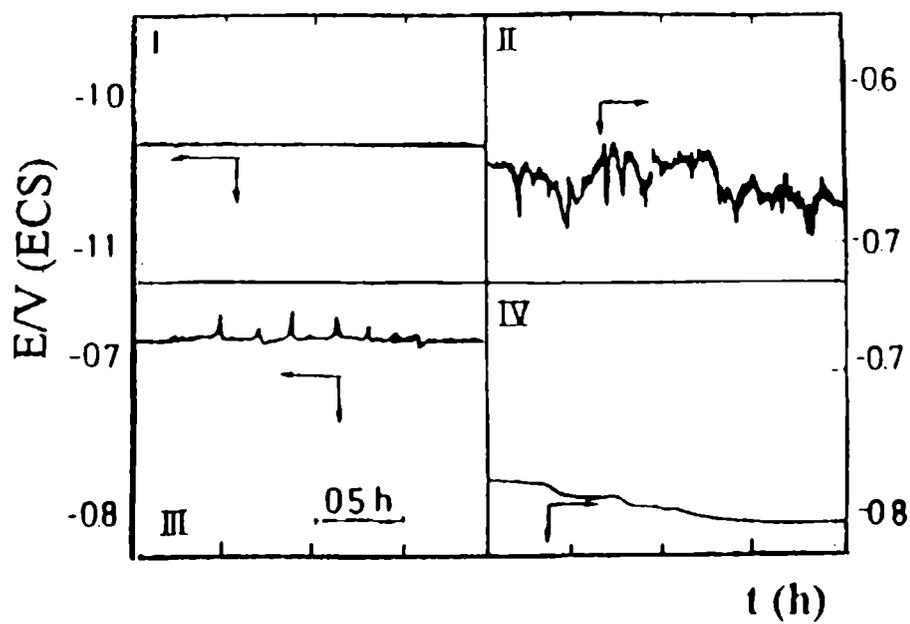


Fig. 26: Registros del potencial a circuito abierto correspondientes a las regiones I, II, III y IV de la Fig. 25.

microsonda se detectó una fuerte señal de carbono en la región cubierta por la película (Fig. 23). La intensidad de la señal estaba directamente relacionada al espesor de dicha película.

Tabla V. Potenciales de picado y repasivación del aluminio

Electrolito	Ep	Er	Desviación estándar
0,9 % NaCl	-0,71 V	-0,78 V	+0,010 V
0,9 % NaCl + 0,48 % citrato de sodio + 0,45 % glucosa	-0,700 V	----	+0,010 V
plasma + 0,48 % citrato de sodio + 0,45 % glucosa	-0,660 V	-0,75 V	+0,020 V

A fin de determinar el estado de las proteínas plasmáticas en el mencionado film se realizó una corrida de inmunoelectroforesis con el precipitado previamente resuspendido en una solución isotónica de NaCl. La Fig. 24 muestra una marcada desnaturalización de las proteínas plasmáticas, visualizada a través de la desaparición de los arcos de precipitación, en el caso de las muestras provenientes del precipitado formado sobre el aluminio. Por el contrario, no se observaron cambios en el modelo inmunoelectroforético de la muestra correspondiente al seno de la solución plasmática.

La Fig. 25 muestra un gráfico típico del PCA versus tiempo del Al en plasma ($pO_2 = 160$ mmHg). Puede observarse que, poco tiempo después de la inmersión, el potencial decrece abruptamente llegando a valores de -1.0 V. En dicha región (región I) el registro del potencial en función del tiempo es uniforme y no se observan oscilaciones (Fig. 26 región I) debido a su estado pasivo. Posteriormente el potencial se incrementa y alcanza valores más anódicos que el Ep (Fig. 25, región II). En este caso, el registro de las curvas no es uniforme y el potencial muestra fluctuaciones (Fig. 26, región II), relacionadas probablemente con el inicio del ataque localizado (Syrett y Wing, 1978). Simultáneamente puede observarse la presencia de un precipitado, por debajo del cual existen picaduras. Finalmente las fluctuaciones de potencial son menores y el registro se torna más uniforme (Figs. 25 y 26, regiones III y IV), sugiriendo que el electrodo vuelve a pasivarse. Estos resultados están de acuerdo con los valores de potencial de repasivación hallados (Tabla V).

DISCUSION

Recientemente se ha reportado que cuando un metal es puesto en contacto con la sangre espontáneamente adsorbe proteínas plasmáticas. Se ha probado a través de diferentes medidas fisicoquímicas que esto ocurre durante los primeros 40-60 s posteriores al momento en que el material no fisiológico se ha puesto en contacto con la sangre (Baier, 1978, Goupil et al., 1980).

Durante el picado de la superficie de Al se forman islas de precipitado amorfo. Dentro de las picaduras se forma una solución saturada de $AlCl_3$ y el valor del pH sería cercano a 3 (Kaesche, 1968; Muller y Galvele, 1977). En esas condiciones las proteínas plasmáticas podrían desnaturalizarse. El análisis del precipitado producido sobre la superficie del aluminio durante la polarización o durante el registro del PCA confirman que el precipitado orgánico es de naturaleza proteica. Dicho precipitado presenta un grado severo de desnaturalización que afecta a todas las fracciones proteicas. Por el contrario, las muestras obtenidas del seno de la solución no muestran alteraciones. Consecuentemente el proceso de desnaturalización es causado por la interacción entre las proteínas y los productos de corrosión formados sobre la superficie metálica.

El registro del PCA muestra que después de alcanzar la pasividad, el potencial del electrodo se incrementa superando el valor del potencial de picado. Después de un cierto tiempo el electrodo se repasiva. Durante su vida como material implantado los procesos de picado y repasivación se repetirán periódicamente.

La biocompatibilidad del Al está entonces asociada al grado de pasividad del mismo. Resultados *in vivo* muestran que cuando circula mayor corriente por un ánodo implantado la inflamación de los tejidos es mayor (Weidlich et al., 1976). Durante la pasividad la corriente de corrosión es baja, mientras que durante el proceso de picado la corriente de corrosión es alta y existirán entonces problemas de biocompatibilidad que puede inducir a inflamación de tejidos circundantes y posible infección.

Los resultados han mostrado que las interacciones Al/fluido biológico alteran las propiedades de éste último. Sin embargo las interacciones son en ambos sentidos ya que debe tenerse en cuenta que el E_p del Al en plasma se vio desplazado anódicamente con respecto al

obtenido en soluciones cloruradas.

Los primeros pasos en el picado de aluminio en soluciones de cloruros incluyen la adsorción del ion agresivo sobre el óxido, seguidos de la interacción química con la película de óxido que conduce a la formación de especies solubles (Nguyen y Foley, 1980). Este proceso provoca el adelgazamiento de la película protectora hasta llegar al contacto directo del ion con el metal. En el caso de soluciones complejas que incluyen aminoácidos y proteínas, la adsorción de iones cloruro podría verse dificultada por la presencia de dichas moléculas que se adsorben fuertemente sobre los metales (Stoner y Srinivasan, 1970).

La carga superficial inicial de la alúmina es positiva. Por lo tanto, estando la mayoría de las proteínas plasmáticas cargadas negativamente, probablemente se adsorban sobre la película de óxido impidiendo la adsorción del cloruro. Esto podría explicar el desplazamiento del potencial de picado hacia valores más anódicos.

Por otra parte, de acuerdo a la teoría de acidificación localizada para el picado (Galvele, 1977), el nivel de acidificación necesario para el crecimiento de las picaduras se alcanza a potenciales más anódicos en soluciones tamponadas que en aquellas no tamponadas. Consecuentemente, el crecimiento de las picaduras se vería más dificultado en el plasma humano debido a la alta capacidad reguladora de las proteínas y los aminoácidos.

IV. ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES METALES DE APLICACIÓN INDUSTRIAL/AGUA DE MAR NATURAL.

Efecto de la naturaleza del metal, estado superficial y condiciones ambientales sobre la formación del microfouling.

La formación de las biopelículas sobre metales está indudablemente influenciada por varios factores que incluyen entre otros la composición química del agua, la turbulencia, la temperatura, la luz, la disponibilidad de nutrientes, el sustrato, el tiempo de exposición (Marszalek et al, 1979). La influencia que algunas de estas variables ejercen sobre la interacción metal/biopelícula/solución depende del ambiente marino donde se desarrolla el estudio, que es en nuestro caso aguas templadas poluidas de un puerto. La complejidad del sistema obliga a que las experiencias se realicen seleccionando la variable de estudio y cuidando que todas las muestras sean afectadas por los otros factores de la misma forma.

El microfouling de origen marino afecta considerablemente los sistemas de intercambio térmico e instalaciones de las plantas que utilizan agua de mar como fluido refrigerante, en particular los de las Centrales Termoeléctricas costeras.

El propósito de la investigación del sistema metal/ agua de mar natural es realizar estudios comparativos entre materiales metálicos expuestos al agua de mar del Puerto de Mar del Plata en distintas condiciones. Se investigarán:

- a) la formación del microfouling en el canal de acceso a la Central Termoeléctrica "9 de Julio" de Mar del Plata sobre distintos metales, a fin de analizar la influencia de la naturaleza del metal y su estado superficial en la formación de la biopelícula.
- b) el efecto del grado de polución, velocidad de flujo y época de muestreo sobre las características del microfouling.

Consideraciones generales sobre los sistemas de enfriamiento que utilizan agua de mar como refrigerante.

Los sistemas de enfriamiento de las centrales termoeléctricas se ven afectados por la formación de biopelículas sobre la superficie de los condensadores. La presencia de biopelículas altera el proceso de condensación del vapor que debe realizarse bajo estrictas condiciones de temperatura y presión. Se producen tres efectos fundamentales: incremento de la resistencia al flujo de agua,

incremento de la resistencia al intercambio de calor y aceleración de la corrosión (Brankevich et al, 1990).

El sistema de refrigeración de una central eléctrica se puede dividir según la velocidad de flujo imperante en: a) áreas o sectores de velocidades de flujo bajas, como son la toma de agua con sus estructuras respectivas (zonas de rejas, rastrillos y filtros), diversas estructuras de las bombas de circulación en contacto con el agua, canales y/o tuberías de acceso, entrada de hombre al sistema, caja de agua de condensadores y plancha soporte de los tubos del condensador; b) áreas o sectores de velocidades de flujo altas, compuestas únicamente por los tubos del condensador. El tipo de biofouling que desarrolla dentro de las áreas de alta velocidad es el microfouling que en general no llega a superar los 500 μm de espesor. A su vez, en los sectores de baja velocidad, el biofouling llega a formar una estructura de macrofouling.

El incremento a la resistencia al flujo de agua está ligado a la reducción de la sección disponible para el flujo, a la mayor rugosidad en las paredes de los tubos y a la mayor resistencia por fricción por las propiedades viscoelásticas de la biopelícula.

Si bien el microfouling afecta la transferencia de calor por conducción y por convección, el efecto que ocasiona el aumento de rugosidad por la formación de la biopelícula en el flujo convectivo de calor es despreciable al compararlo con la interferencia que produce en la transferencia de calor por conducción. Esto se traduce en el aumento de la temperatura de condensación y por ende en el aumento de presión absoluta del condensador. Debido a ello existe una disminución en la capacidad de generación de la turbina o un aumento en el consumo de combustible al reducirse el rango óptimo de funcionamiento de este equipo (Brankevich, 1992).

Se estima que la capacidad de generación de las centrales eléctricas que utilizan agua de mar como refrigerante (Centrales Termoelectricas de Mar del Plata, Necochea y Bahía Blanca) puede verse reducida hasta en un 3,5 % debido a la formación de fouling. A estas pérdidas deben agregarse las asociadas a la limpieza del condensador.

EXPERIMENTAL

Las muestras metálicas consistieron en discos de 18 mm de diámetro incluidos en una resina (Araldite, MR) cuya área expuesta era de 2,35 cm². Antes de su uso fueron pulidos con varios papeles de esmeril de distintos tamaños de granos (320, 600, 1200) y con pasta de alúmina (1 µm). Cada tratamiento superficial fue experimentado separadamente a fin de investigar el efecto de la rugosidad superficial sobre la adherencia de microorganismos.

Se utilizaron muestras de distintos metales ampliamente usados en equipos y dispositivos en contacto con agua de mar: acero inoxidable (AISI 304L), cobre-níquel 70/30 y bronce aluminio cuyas composiciones están detalladas en la Tabla IV (a y b). También se utilizaron aluminio (99,7%) y cobre (99,9%), titanio grado 2, aceros inoxidables (316T y 430) y muestras de vidrio con fines comparativos. Las características del lugar y del sistema de muestreo se describieron previamente en experiencias de campo "A".

RESULTADOS

Efecto de la naturaleza del metal y la rugosidad superficial.

Después de tres días de inmersión en el canal de acceso de la Central Termoeléctrica de Mar del Plata, la adherencia de los microorganismos en las muestras en metales de distinta naturaleza pero de igual acabado superficial (esmeril grado 600) fue muy disímil.

Las muestras de acero inoxidable no mostraron cambios apreciables a ojo desnudo. Su apariencia continuaba siendo brillante. A través de MEB pudieron observarse bacterias aisladas adheridas, principalmente bacilos y algunos cocos (Fig. 27) distribuidos sobre la superficie junto con material precipitado de distinto origen.

La superficie de los otros metales se vio más alterada que la del acero inoxidable. La observación a través del MEB reveló que la adherencia de bacterias al aluminio era algo inferior a la observada en el acero inoxidable. La superficie del aluminio estaba cubierta por una capa de productos de corrosión sobre la que se hallaban adheridas las bacterias, entremezclándose con otros

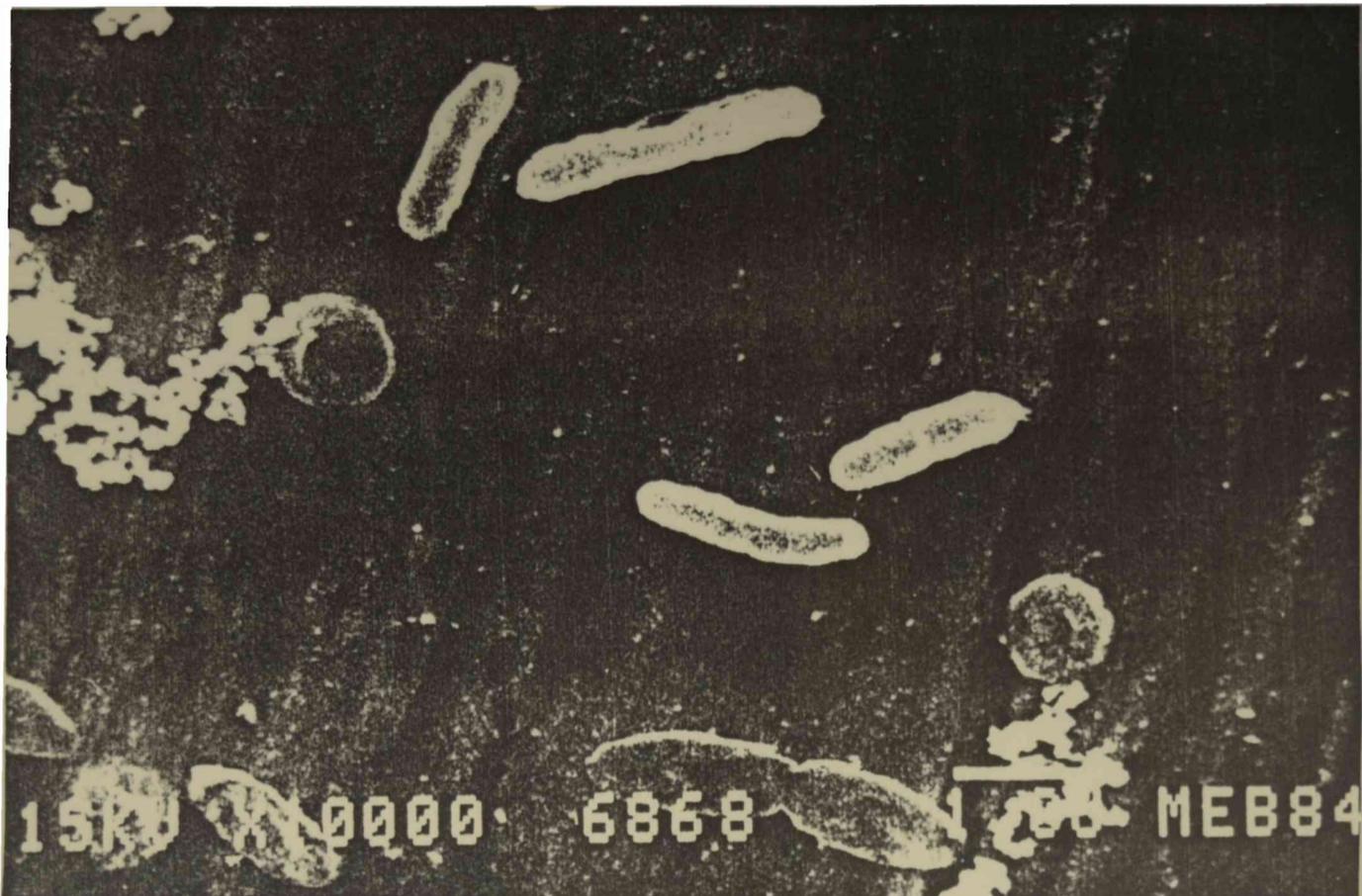


Fig. 27: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de acero inoxidable AISI 304 L. luego de 3 días de inmersión en agua de mar natural (X10000)

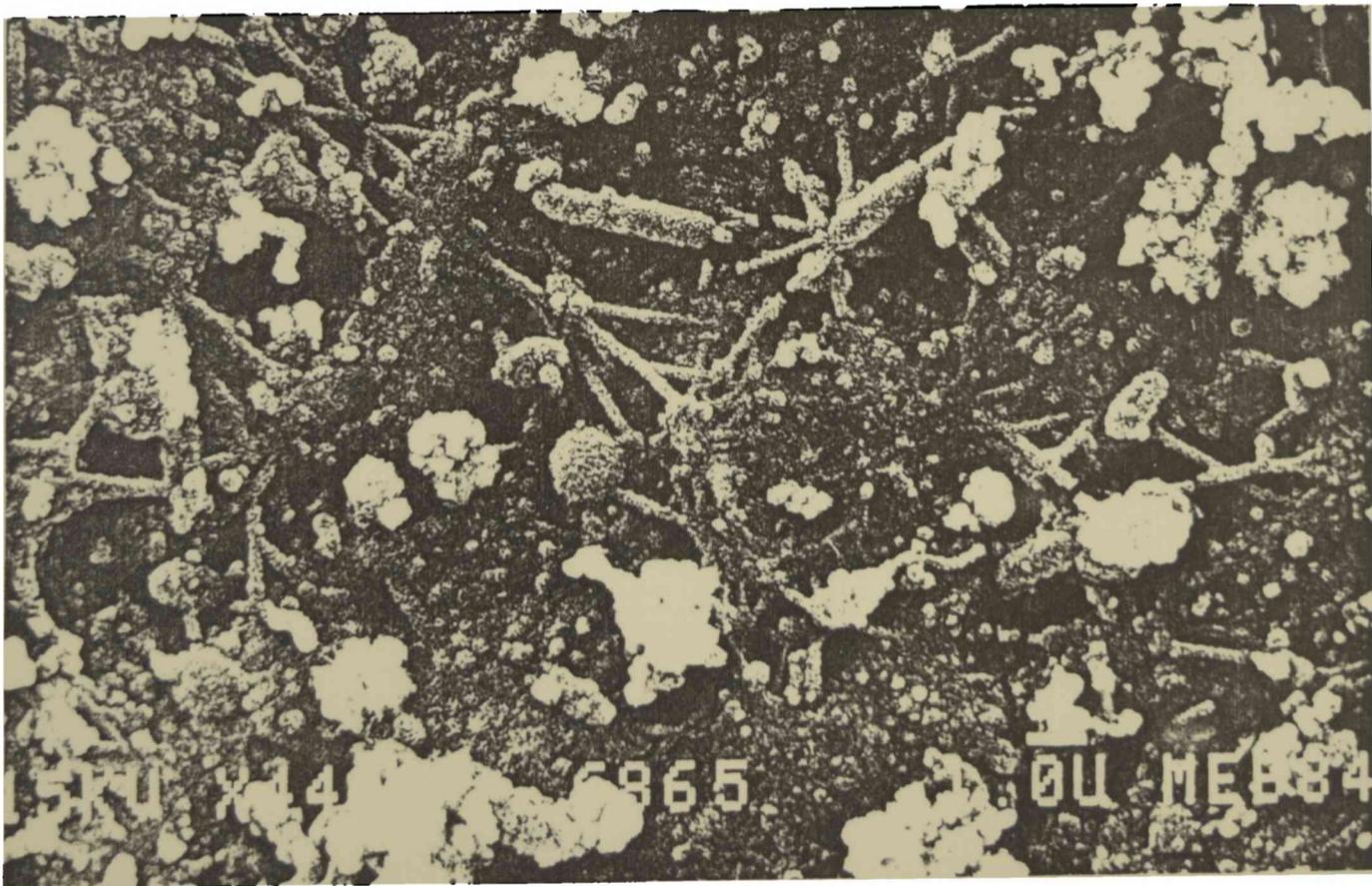


Fig. 28: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de aluminio luego de 3 días de inmersión en agua de mar natural (X4400)

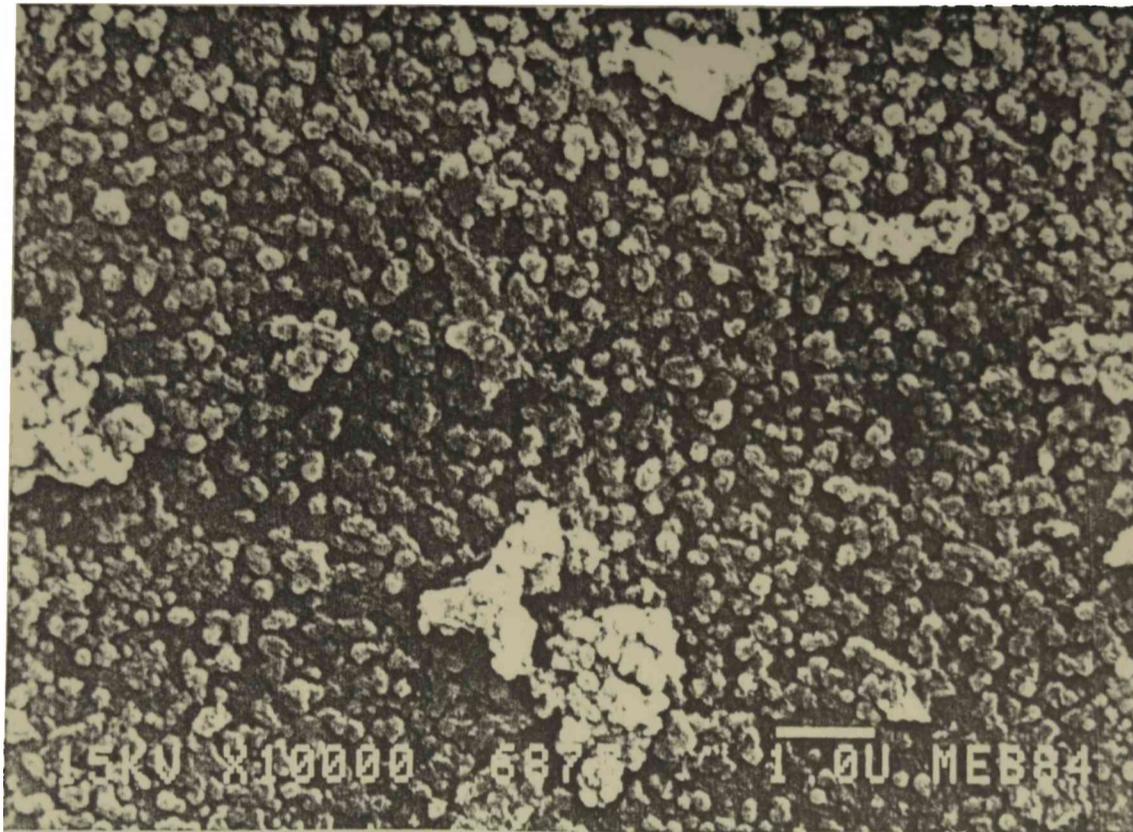


Fig. 29: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de cobre luego de 3 días de inmersión en agua de mar natural (X10000).

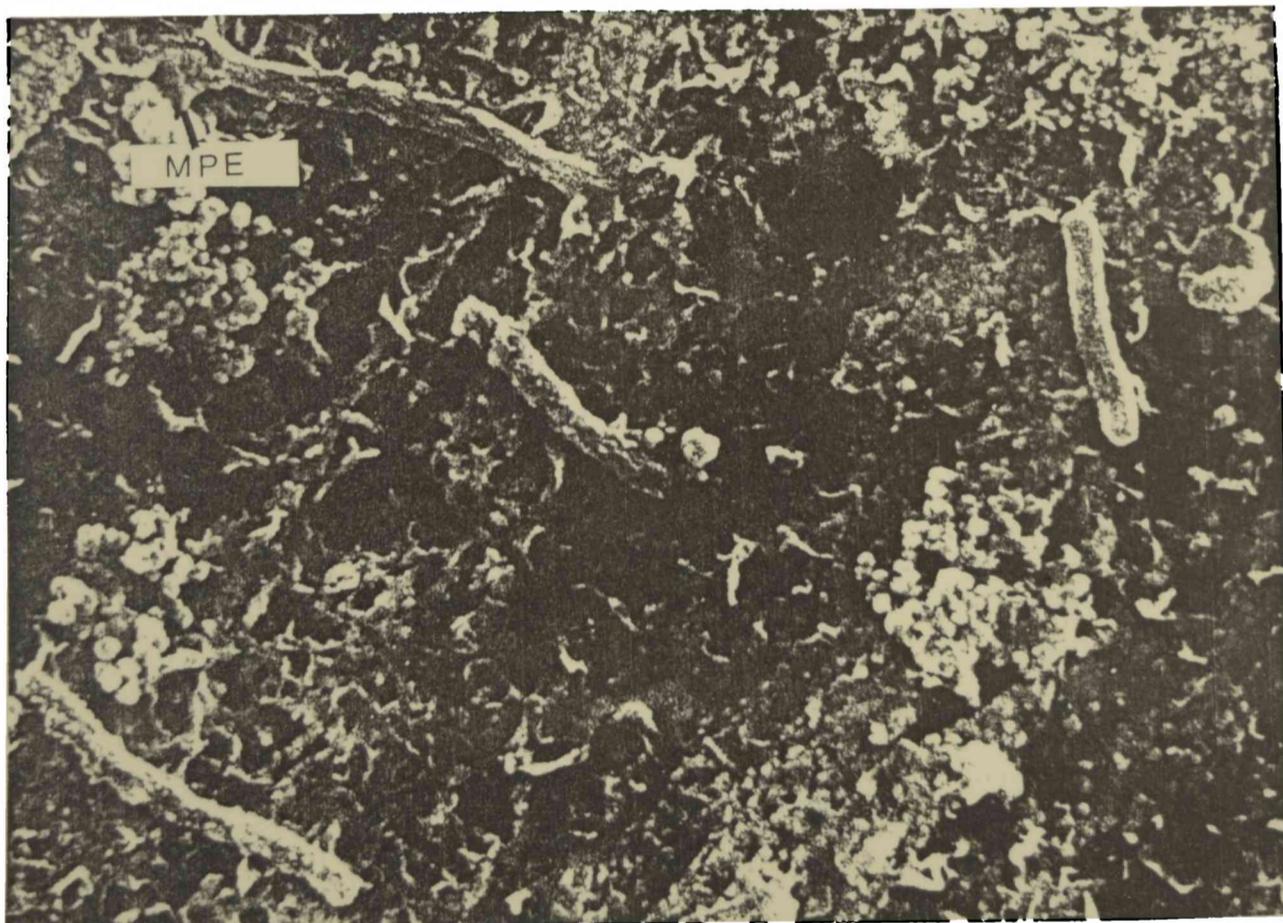


Fig. 30: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de bronce aluminio luego de 3 días de inmersión en agua de mar natural (X10000).

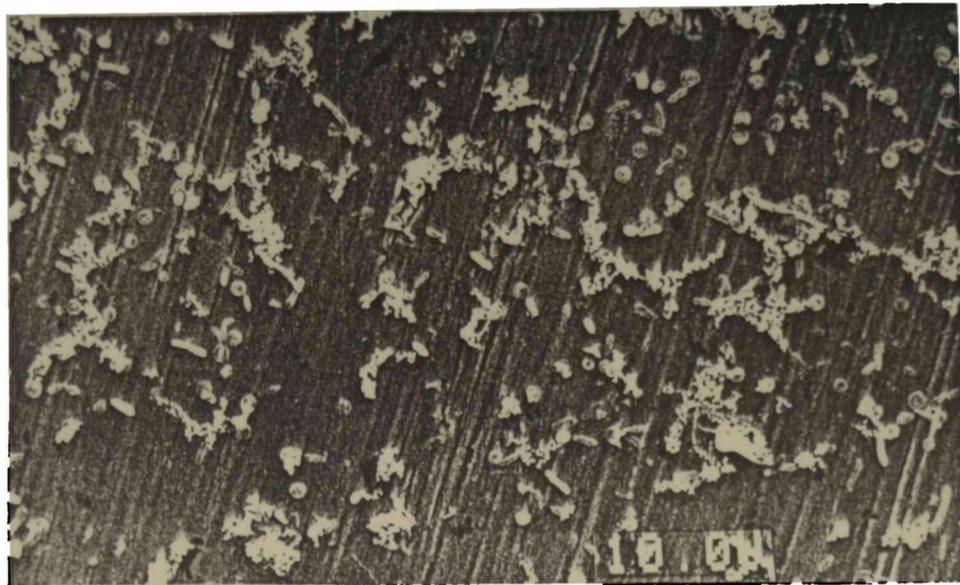


Fig.31

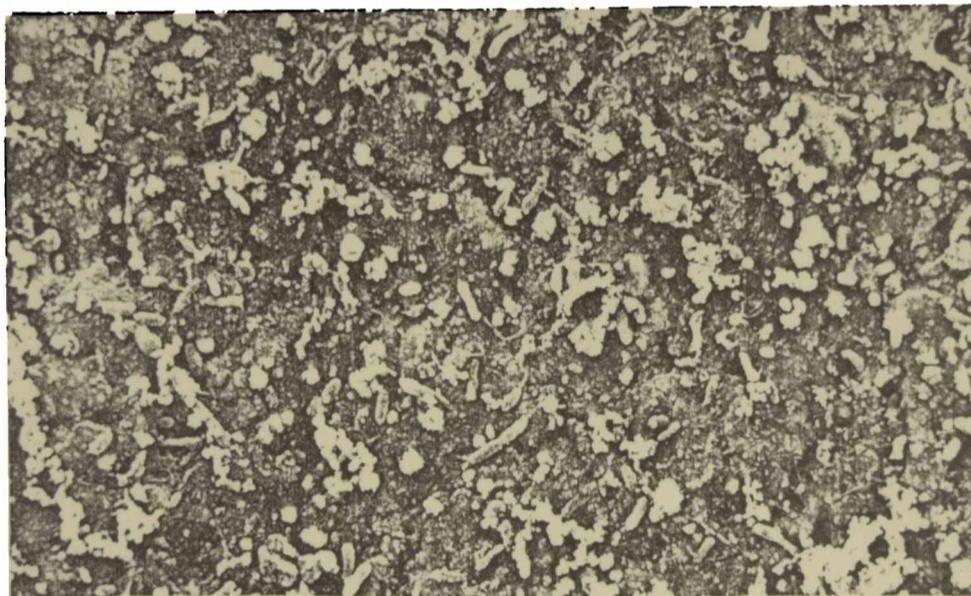


Fig. 32

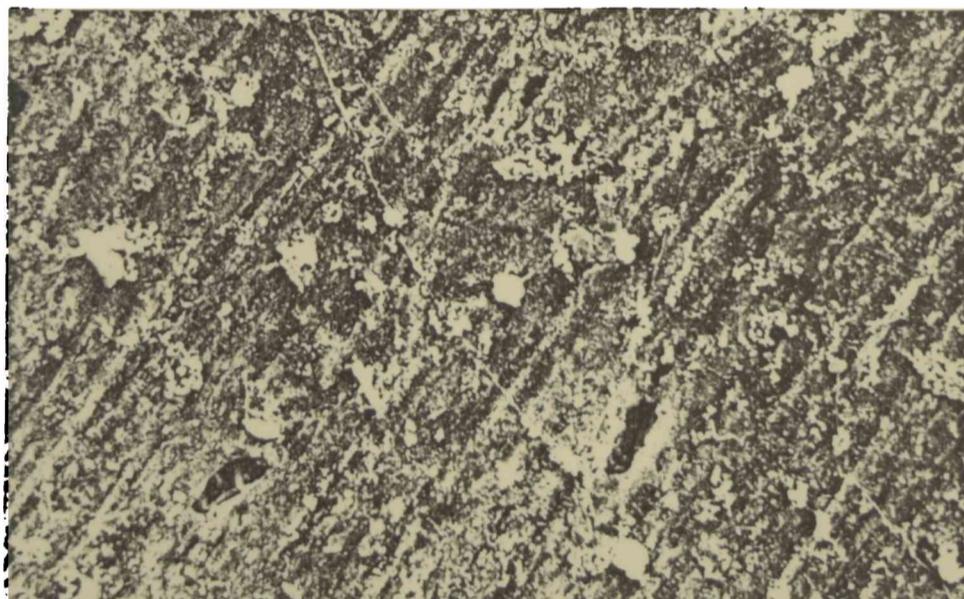


Fig.33

Figs. 31, 32, 33: Microfotografías obtenidas a través del MEB de muestras metálicas luego de 3 días de inmersión en agua de mar natural (X1500) correspondientes a: acero inoxidable AISI 304 L (Fig. 31); aluminio (Fig. 32); bronce aluminio (Fig. 33).

materiales precipitados. Los productos de corrosión se mezclaban con material inorgánico precipitado, MPE y material orgánico filamentoso (Fig. 28).

Tanto el bronce como el cobre-níquel y el cobre presentaron una marcada transformación superficial luego de la inmersión pues se hallaban parcialmente cubiertos por una capa porosa, mostrando la iniciación del ataque corrosivo en otras regiones. La adherencia del cobre fue nula en este período (Fig. 29) pero sus aleaciones (bronce aluminio y cobre-níquel) presentaron bacterias adheridas (Fig. 30), si bien la densidad superficial de las mismas resultó ser muy inferior a la observada en el aluminio que también presentaba abundantes productos de corrosión. Es interesante comparar, a un mismo aumento, las superficies del acero inoxidable 304L, aluminio y bronce (Figs 31, 32 y 33) luego del mismo período de inmersión.

Las muestras de vidrio expuestas durante 3 días presentaban un asentamiento de bacterias aisladas similar a las del acero inoxidable, sin embargo, a diferencia de ellas, algunas de las bacterias ya se habían reproducido, dando lugar a pequeñas colonias.

Cuando se incrementó el período de inmersión a 5 y 7 días pudo observarse un marcado incremento en la colonización de las muestras de acero inoxidable, que presentaban numerosas bacterias adheridas y pequeñas colonias en formación, sin variar apreciablemente su estado superficial (Fig. 34) . En el caso de las aleaciones de cobre si bien se incrementó el número de bacterias adheridas, la cantidad y diversidad de especies fue muy inferior que en el acero inoxidable.

A fin de analizar la influencia del acabado superficial sobre la adherencia bacteriana se realizaron inmersiones de superficies pulidas hasta esmeril 320, 600 y 1200. Pudo observarse que las bacterias pequeñas (menores de 1 μm) de forma esférica podían asentarse tanto sobre las crestas como sobre los valles del pulido grueso (granulometría 320) exudando MPE que les permitía fijarse sobre la superficie (Fig. 35) . Las bacterias bacilares de mayor tamaño se asentaban sobre las crestas utilizando el MPE producido no sólo en la base sino también en forma lateral, para unirse entre ellas y a la superficie (Fig. 36). La densidad superficial de las bacterias no parece verse afectada por la rugosidad superficial, en las condiciones de flujo laminar en que se realizó la experiencia.

Luego de 7 días de inmersión las muestras de acero estaban cubiertas de

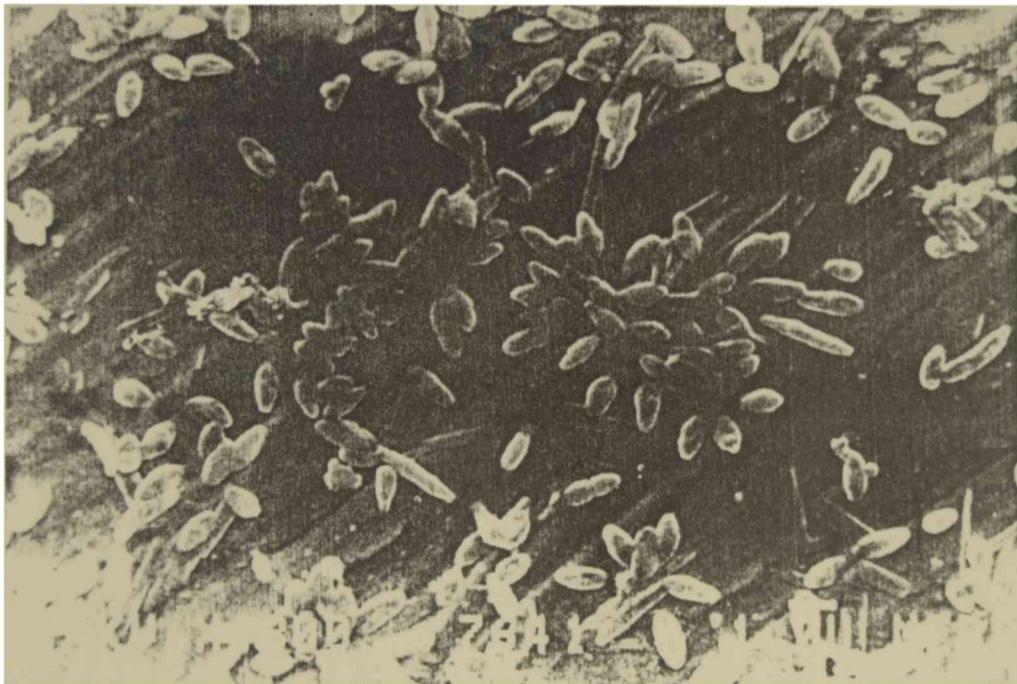


Fig. 34: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de acero inoxidable AISI 304 L (pulido hasta esmeril 1200) luego de 5 días de inmersión en agua de mar natural (X4800).

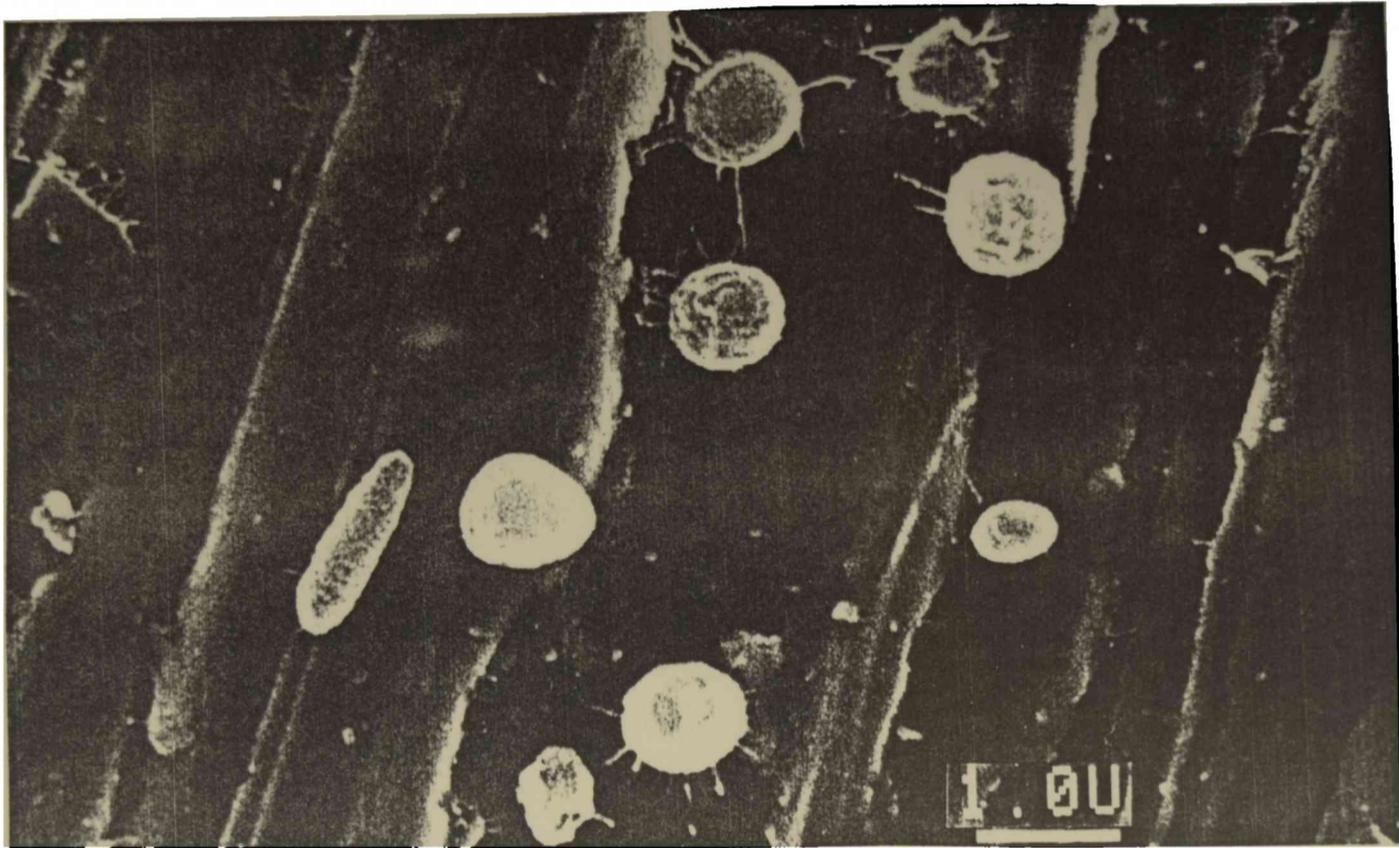


Fig. 35: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de acero inoxidable AISI 304 L (pulido hasta esmeril 320) luego de 5 días de inmersión en agua de mar natural. Se observan cocos en los valles de las rugosidades superficiales (X11000).

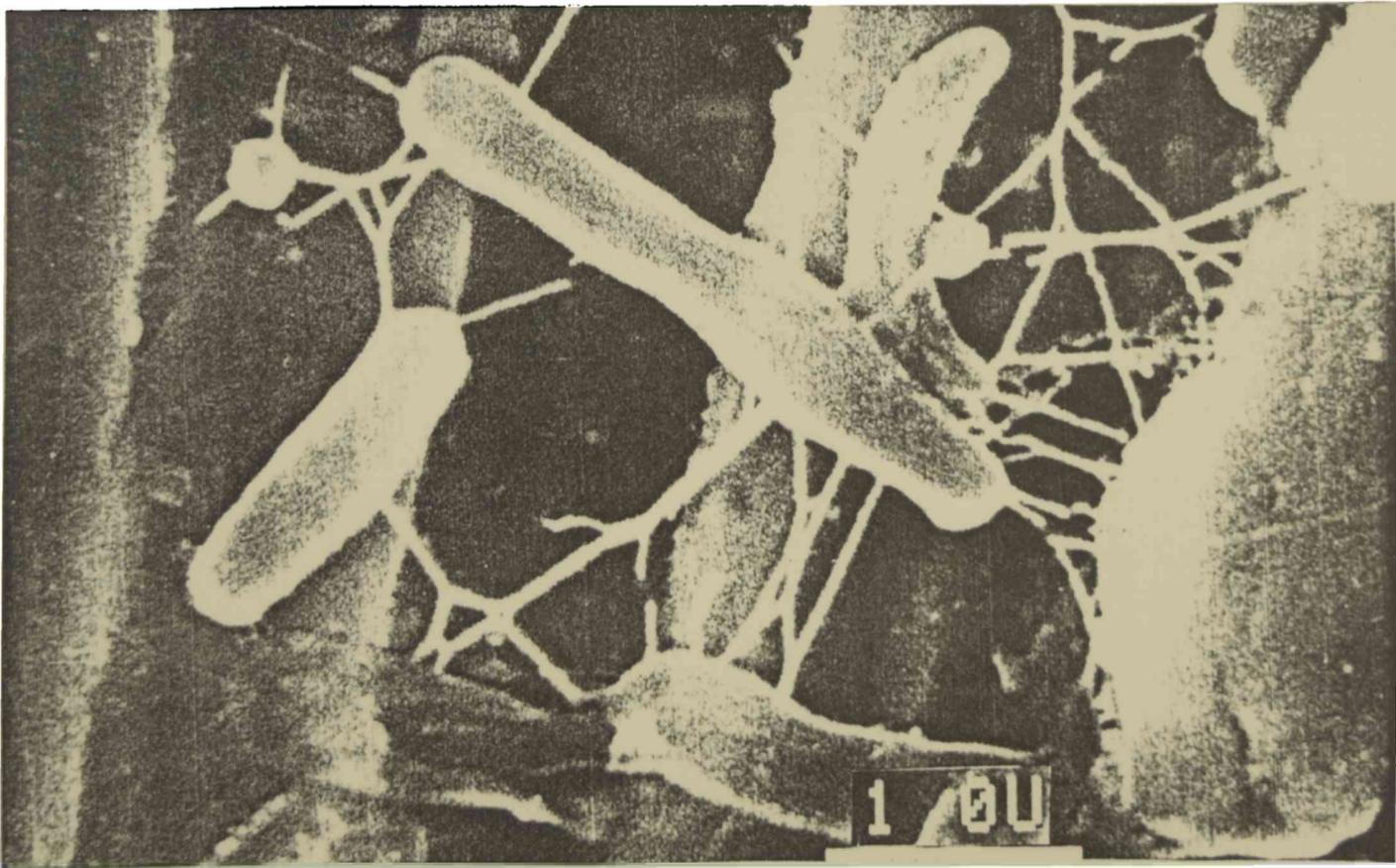


Fig. 36: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de acero inoxidable AISI 304 L (pulido hasta esmeril 3200) luego de 5 días de inmersión en agua de mar natural. Se observan bacilos en las crestas de las rugosidades superficiales (X18000).

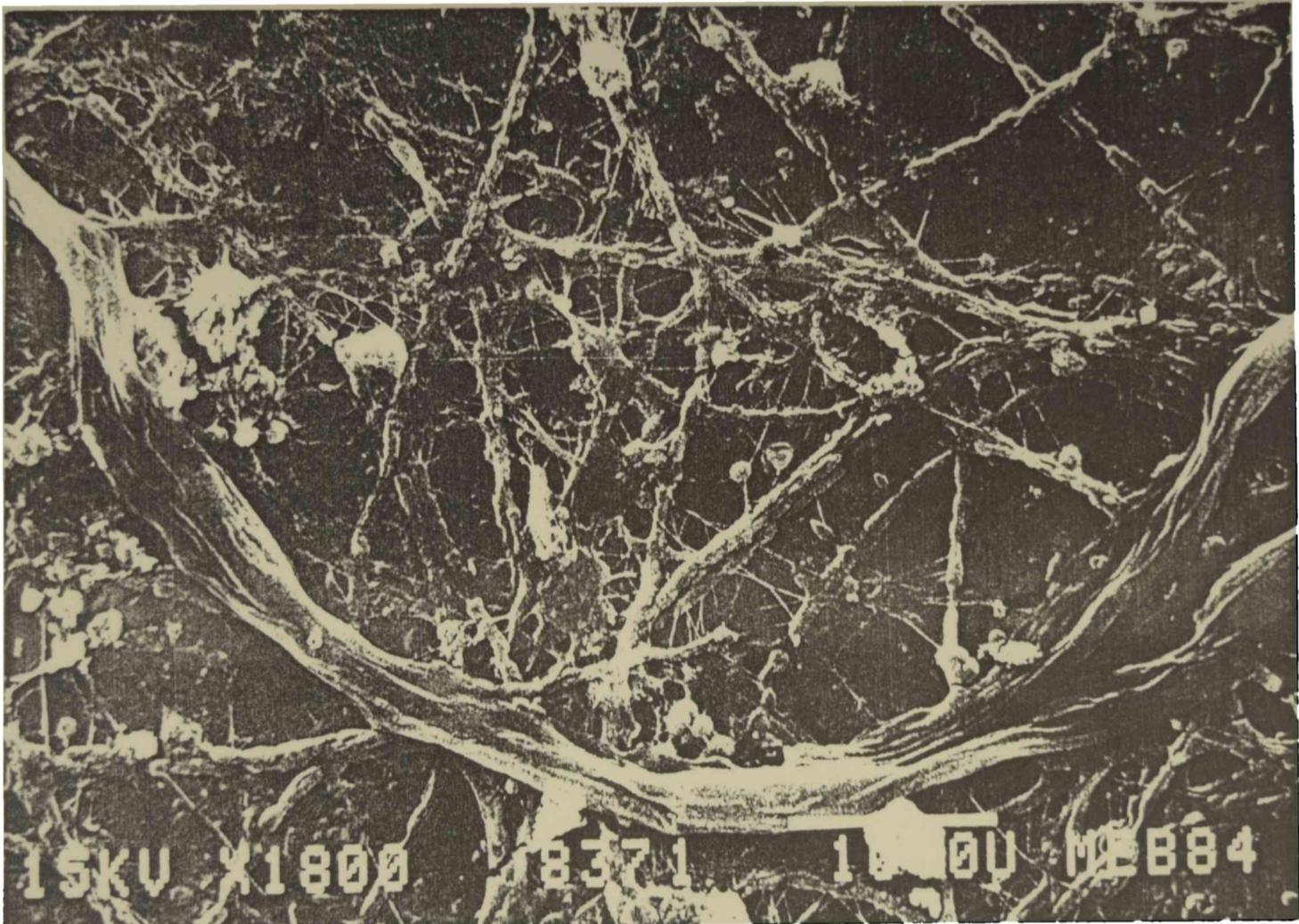


Fig. 37: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de titanio luego de 14 días de inmersión en agua de mar natural (X1800).

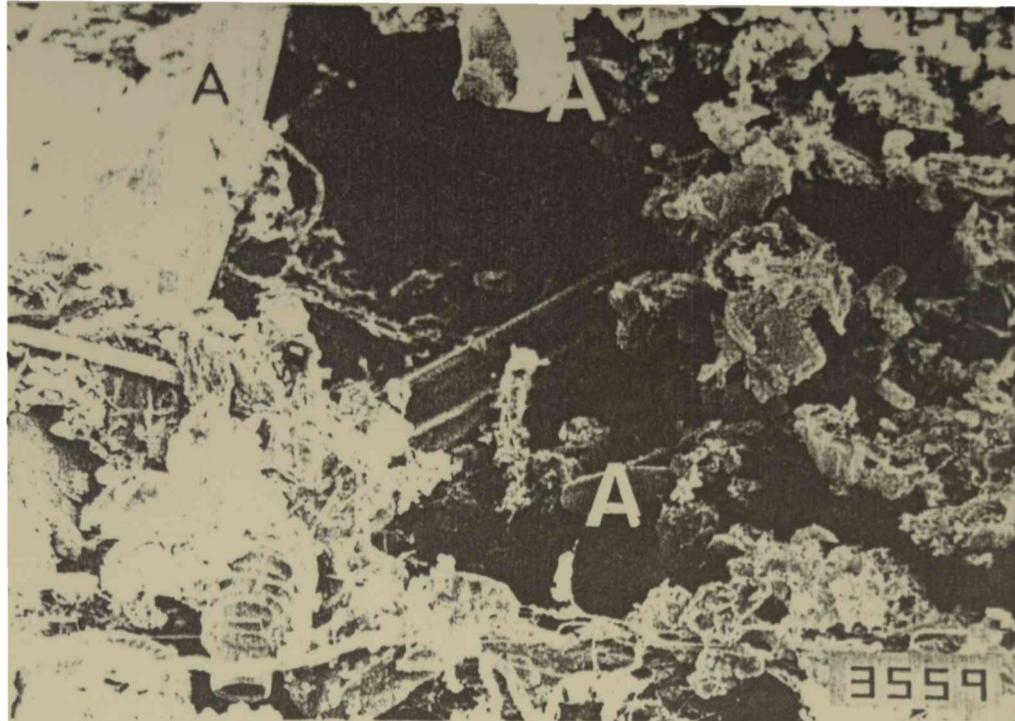


Fig. 38a



Fig. 38b

Fig. 38: Microfotografía obtenida a través del MEB de muestras de acero inoxidable luego de 28 días de inmersión en agua de mar natural a) AISI 316 T (2000X); b) AISI 430 (X200), A=algas; P=protozoos..

una fina capa adherente en la cual se comenzaban a sumergir las bacterias. Por ese motivo la imagen de las bacterias adheridas se podía observar con distinto grado de nitidez de acuerdo a la profundidad en que se encontraban sumergidas (Fig. 37) y ya no se percibía el grado de rugosidad superficial.

En el caso de los metales que como el Al, el cobre y sus aleaciones que se cubren de una película de productos de corrosión gruesa al poco tiempo de sumergirse en el agua de mar, los cupones tratados hasta esmeril 320 y 1200 muestran al cabo de 3 días una superficie relativamente uniforme desapareciendo las diferencias de rugosidad originales.

Después de 14 días de inmersión el número y la variedad de especies se incrementó notablemente. La superficie del vidrio al igual que la del titanio y el acero se encontraba cubierta por una gruesa capa de MPE (Fig. 38) en el que adherían además de bacterias, protozoos especialmente del género *Zoothamnium* y abundante material biológico filamentoso. Debe aclararse sin embargo, que el grosor de la capa de MPE parece ser mayor en el caso del Ti que del acero inoxidable, habiéndose encontrado en la superficie del primero y en el vidrio algunas diatomeas aisladas. Una semana después también se observaron diatomeas sobre la superficie del acero inoxidable. Similares depósitos biológicos pero en menor densidad se observaron sobre el aluminio.

Si se comparan muestras de los tres tipos de aceros inoxidables expuestas simultáneamente durante 28 días puede observarse que las biopelículas formadas no muestran diferencias apreciables. En todas pueden encontrarse gran cantidad de diatomeas de distintas especies (Fig. 38 a y b) y colonias de protozoos que se adhieren a la superficie exudando MPE en la base de sus pedúnculos (Figs. 39 y 40)

Las aleaciones de cobre continuaron presentando menor abundancia y diversidad de especies que las muestras anteriormente mencionadas, mezcladas con gran cantidad de productos de corrosión y material orgánico de naturaleza poco adherente (Fig. 41). A modo de ejemplo puede decirse que la abundancia de especies sobre el cobre-níquel representa entre el 10 o 20 % de la correspondiente al acero inoxidable. El período de acondicionamiento que precede al de adherencia es mayor en las superficies de las aleaciones de cobre. Así por ejemplo el asentamiento de diatomeas aisladas ocurre unas dos semanas después que la observada en el titanio y el acero.

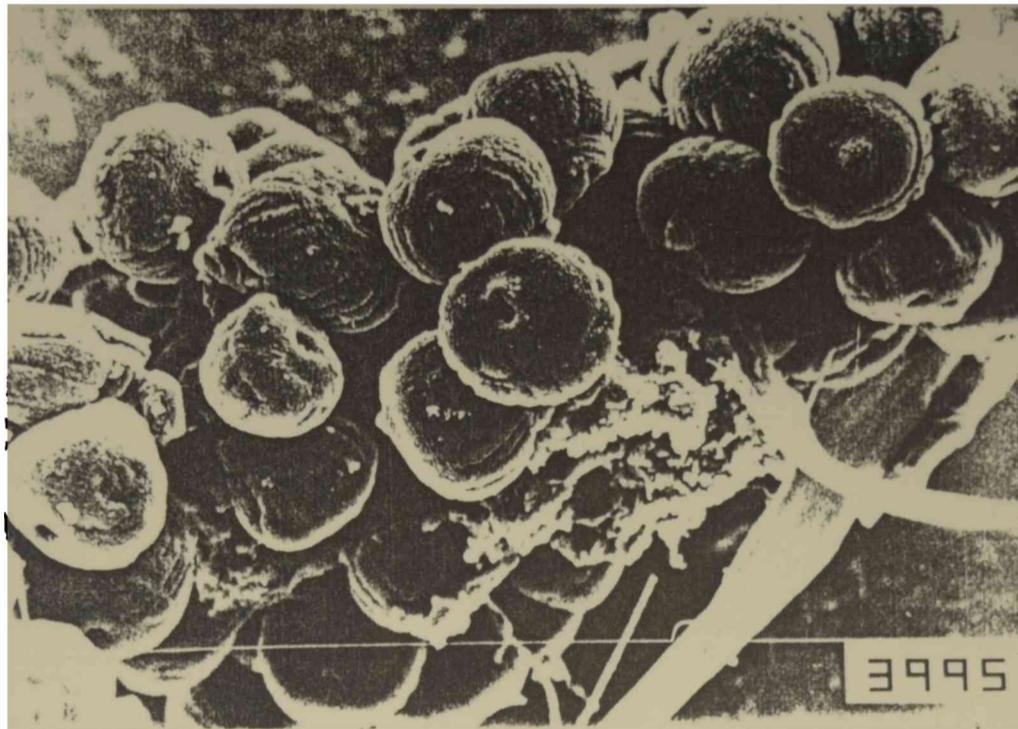


Fig. 39: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de acero inoxidable AISI 316 T luego de 28 días de inmersión en agua de mar natural. Se observa una colonia de *Zoothamnium* sp. (750X).

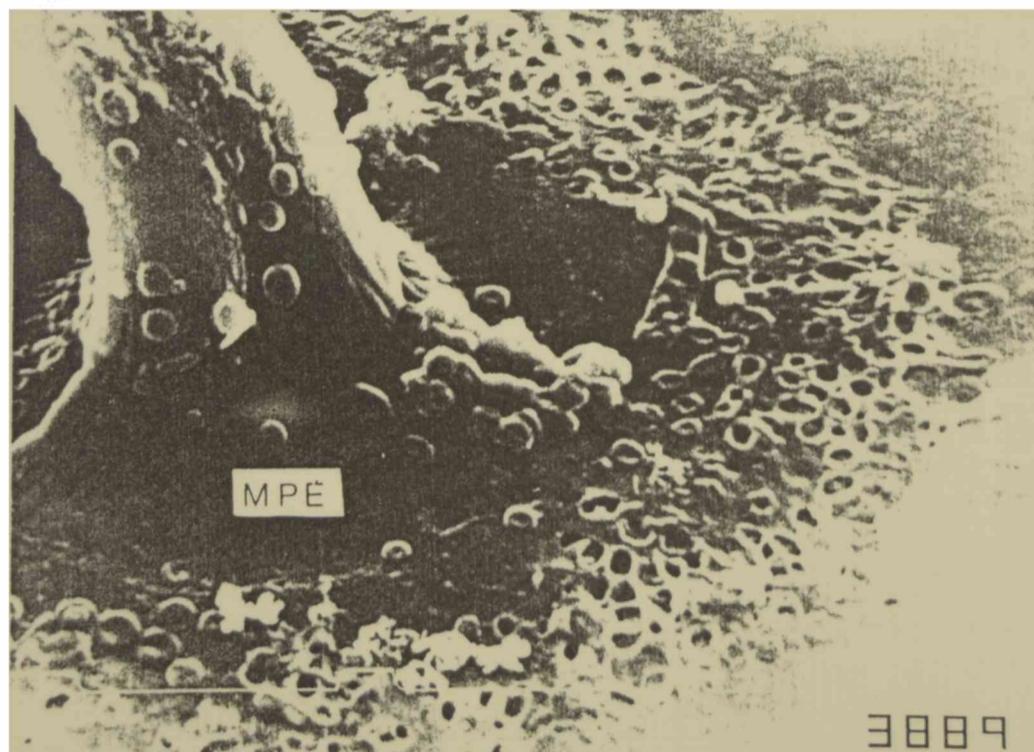


Fig. 40: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de acero inoxidable AISI 316 T luego de 28 días de inmersión en agua de mar natural. Detalle de la base del pedúnculo de un *Zoothamnium* sp. (X3500).

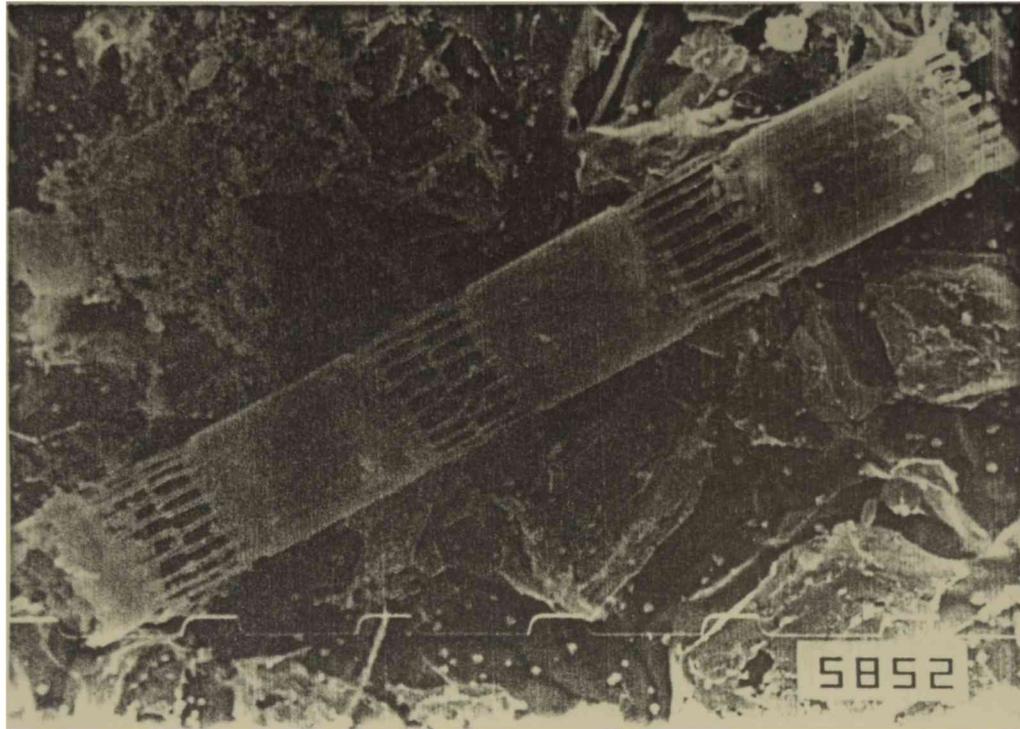


Fig. 41: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de la aleación cobre-níquel 70/30 luego de 28 días de inmersión en agua de mar natural. Se observa una diatomea (*Skeletonema* sp) sobre la superficie atacada (X2000).



Fig. 42: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de acero inoxidable AISI 304 L luego de 28 días de inmersión en agua de mar natural. Se observa una gran producción de MPE por parte de las bacterias (X3860).

Influencia de los factores ambientales

A fin de estudiar la influencia del lugar de muestreo (zona portuaria vs. mar abierto) se realizó una inmersión de muestras de vidrio fuera del área del puerto. En dicho lugar el nivel de polución de las aguas es considerablemente menor debido a la ausencia de los desechos de la industria pesquera y a una mejor renovación del agua por efecto de las corrientes y las olas. Pudo observarse que solamente adhirieron sobre las muestras un escaso número de bacterias aisladas mientras que las que habían sido sumergidas en la zona portuaria, ya formaban pequeñas colonias.

La presencia de protozoos del género *Zoothamnium* en abundancia en la zona portuaria es un índice de polución ya que se alimentan principalmente con bacterias suspendidas en el agua. La comparación entre el desarrollo de biofouling en áreas de distinto grado de contaminación permite también observar que existe una reducción de la diversidad específica en las áreas poluidas.

Se notaron importantes cambios estacionales cuando se realizaron muestreos en distintos períodos del año. Para un mismo período de inmersión (7 días) la comparación de muestras expuestas en el mes de mayo con otras del mes de diciembre permite verificar que la formación de MPE aumenta y los períodos de acondicionamiento para la adherencia de ciertas especies se acortan en diciembre (Fig. 42). Es así que luego de 14 días de inmersión se hallaron protozoos adheridos y formando colonias sobre el acero en diciembre, hecho que no pudo observarse en el mes de mayo en el mismo período.

La comparación de muestras expuestas en las tuberías de acceso (flujo laminar) con aquellas expuestas en el interior de los intercambiadores de calor (flujo turbulento) permitió comprobar que en este último caso existe una gran cantidad de material biológico de tipo filamentoso en el que quedan atrapadas muchas diatomeas (Fig. 43).

Medidas de potencial a circuito abierto de muestras de aceros inoxidables.

Las medidas de PCA de los cupones de los tres aceros ensayados (Fig. 44 a) muestran oscilaciones de potencial muy marcadas (entre -0,5 y 0,0 V) en todos

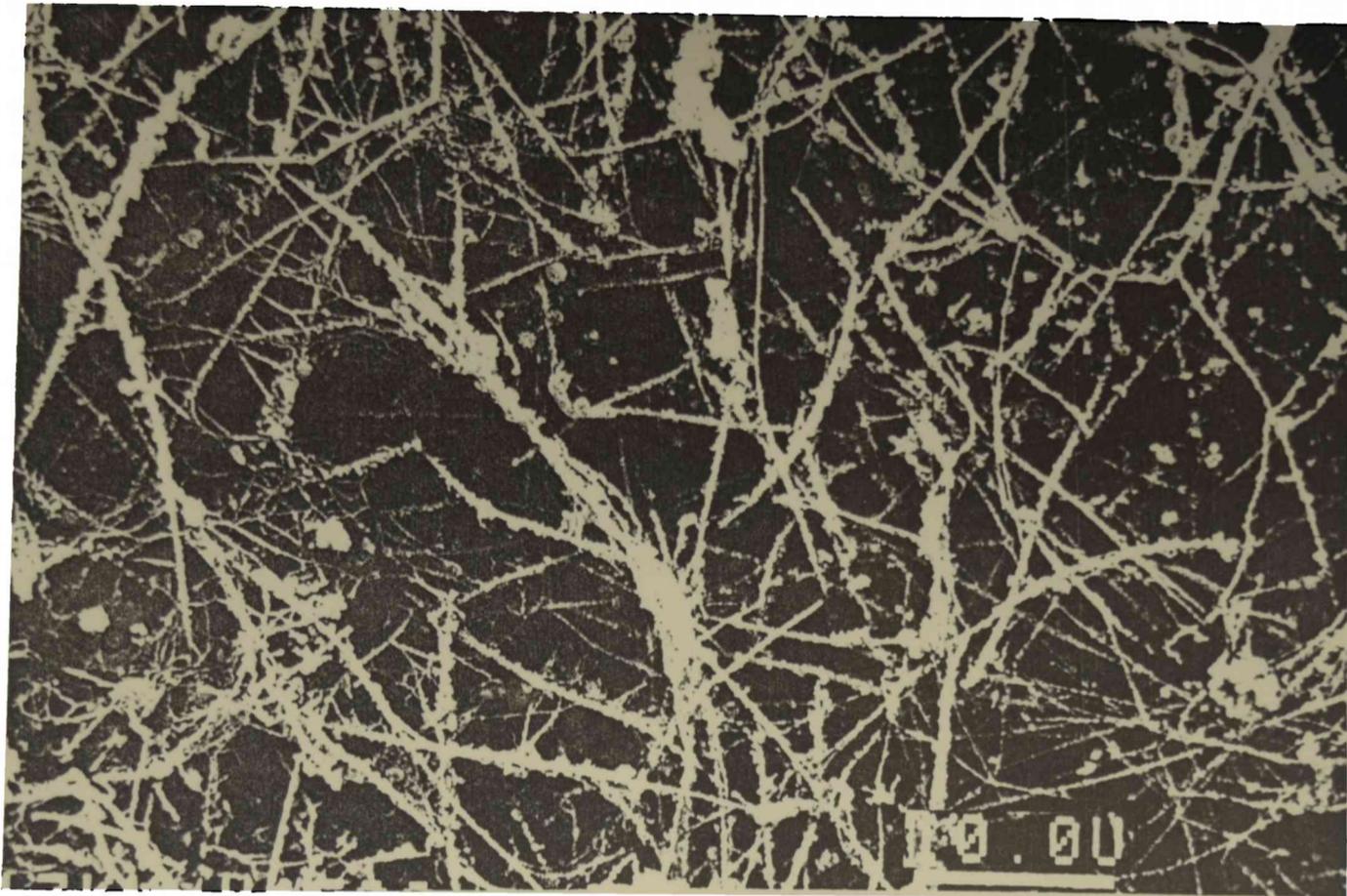


Fig. 43: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de la aleación cobre-níquel 70/30 luego de 56 días de inmersión en agua de mar natural con flujo turbulento. Se observa gran cantidad de material biológico filamentososo sobre la superficie (X1500).

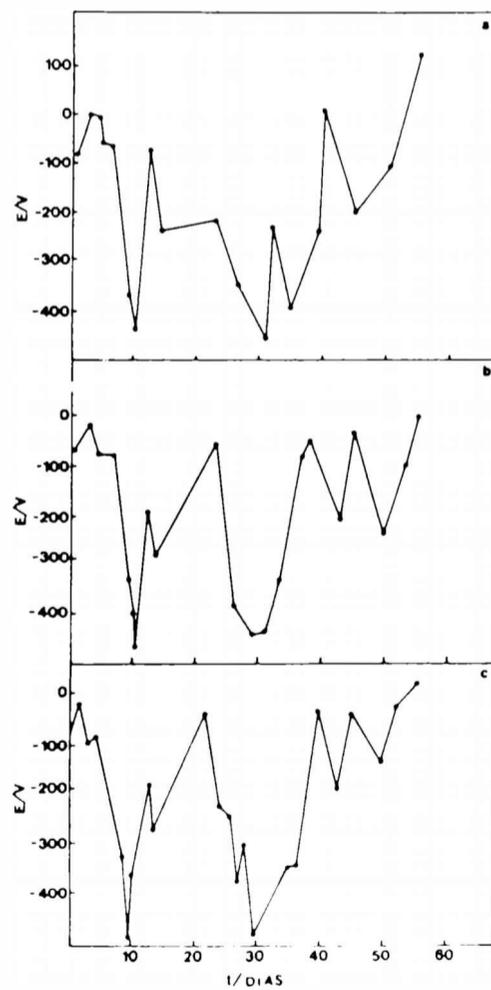


Fig. 44a: Potencial a circuito abierto vs. tiempo de aceros muestras inoxidables sumergidas en agua de mar natural: a) AISI 304 L; b) 316 T; c) 430.

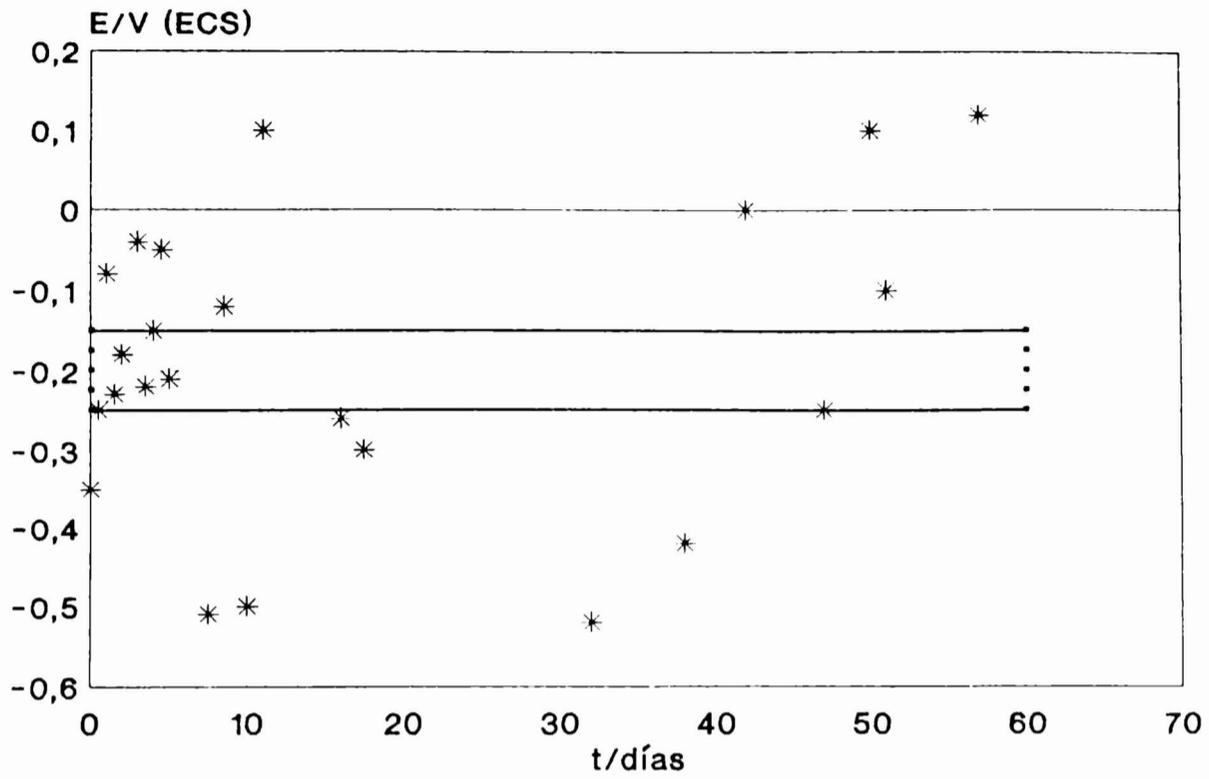


Fig. 44b: Diagrama potencial a circuito abierto (PCA) vs. tiempo correspondiente a muestras de acero inoxidable AISI 304 L sumergidas en agua de mar natural. La barra indica la región de potenciales en que oscila el valor del PCA en el agua de mar filtrada.

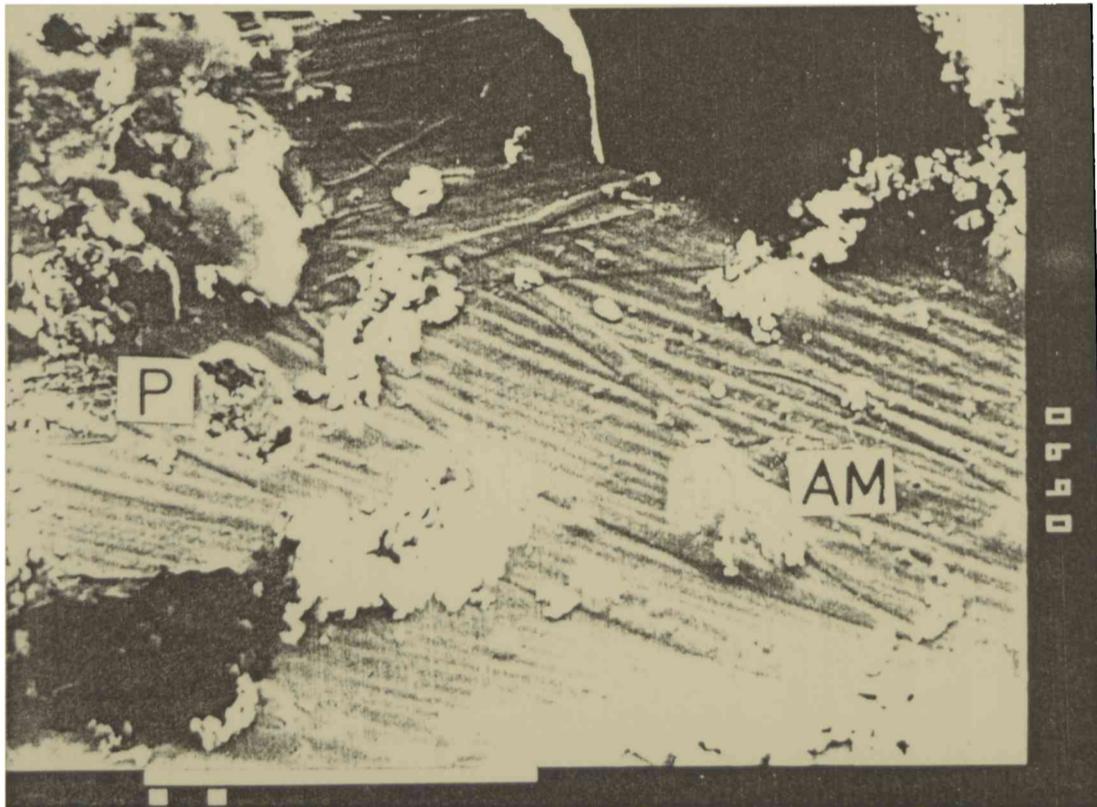


Fig. 45: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de acero inoxidable AISI 316 T sumergida durante 28 días en el agua de mar natural. AM= Ampolla; P= picadura.

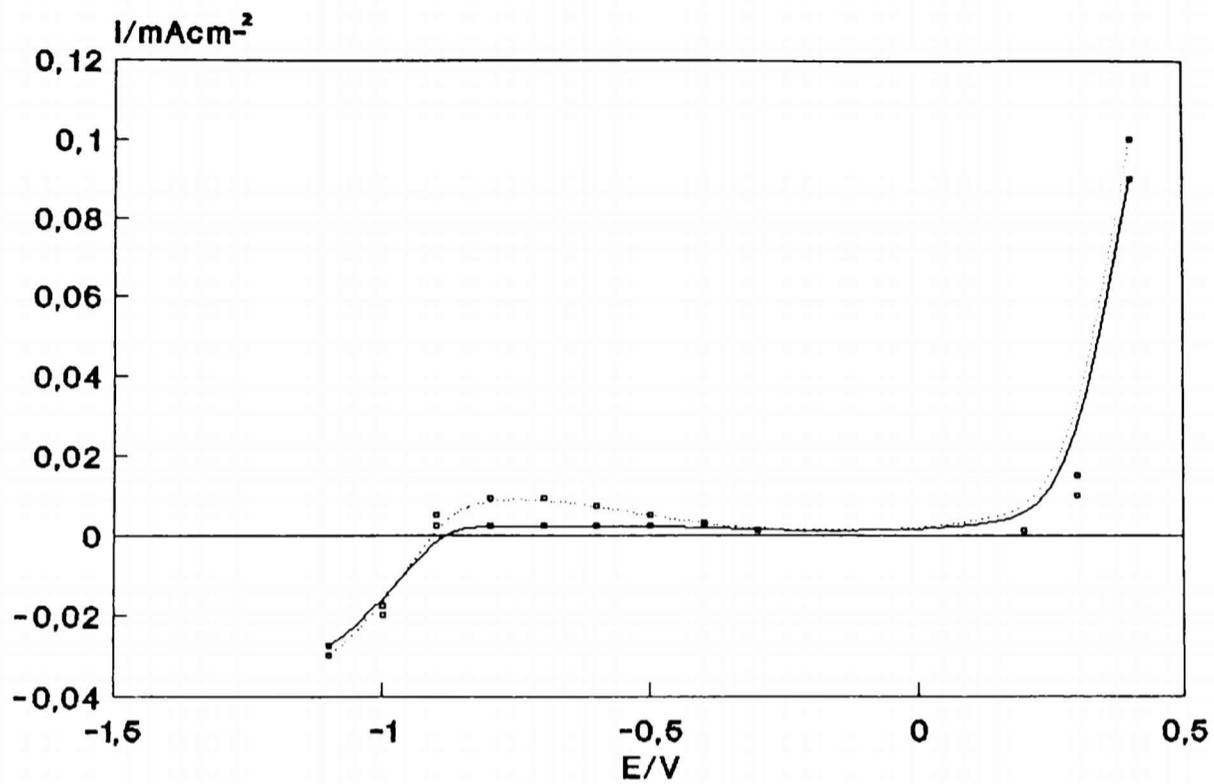


Fig. 46: Curva de polarización correspondiente al acero inoxidable AISI 304 L luego de 14 días de inmersión en agua de mar natural: (- - -) en presencia de la biopelícula; (—) en ausencia de la biopelícula.

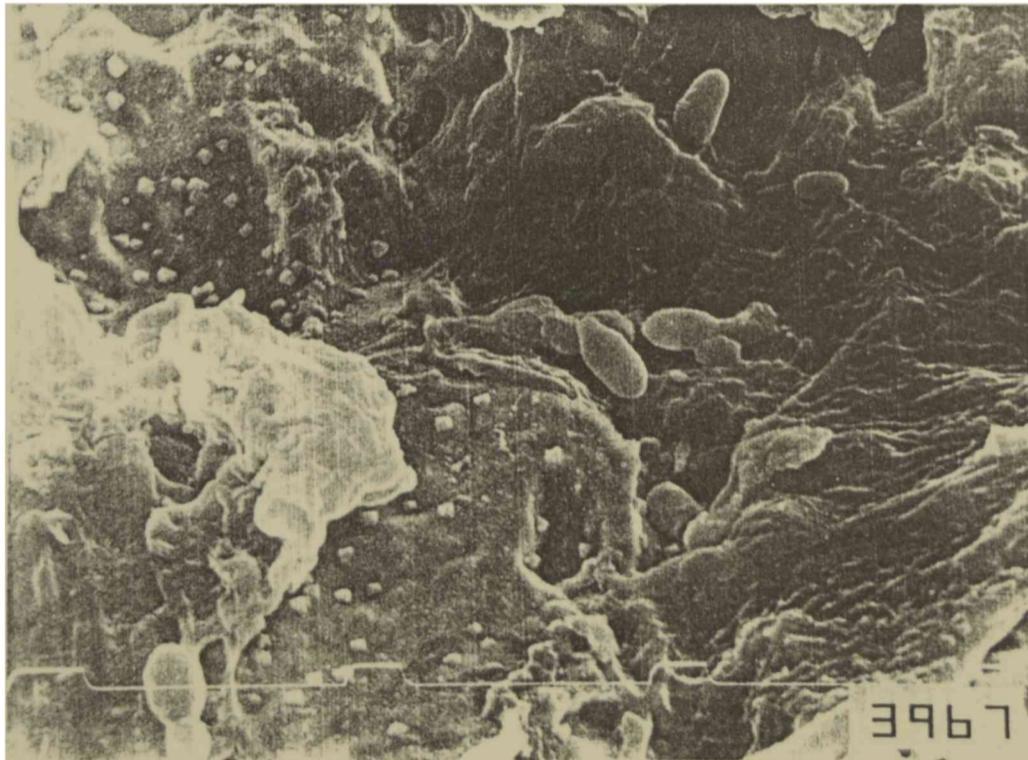


Fig. 47: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de cobre níquel 70/30 sumergida durante 28 días en agua de mar natural. Se observa una pátina de material polimérico extracelular que cubre la superficie corroída del metal (X3500).

los casos. Si se comparan los PCA medidos para distintas muestras a distintos tiempos de inmersión con los valores correspondientes a inmersiones en agua de mar filtrada puede notarse la ausencia de tales oscilaciones en éstas últimas cuyo PCA, en el caso del acero AISI 304 L varía entre -0,25 y -0.15 V (Fig. 44 b). Después de 30 días de inmersión pudieron observarse pequeñas ampollas y micropicaduras debajo de ellas (Fig. 45).

Si a las muestras cubiertas por la biopelícula se las somete a un barrido de potencial triangular desde potenciales muy catódicos (-1,1 V) en agua de mar desaireada, puede observarse un aumento de la corriente a bajos potenciales (Fig. 46). Este incremento no ocurre cuando se repite la experiencia luego de remover la biopelícula.

DISCUSIÓN

Las características fisicoquímicas del sustrato tienen un marcado efecto sobre la formación del biofouling molecular. La carga y la tensión superficial de cada sustrato condicionan la cantidad y calidad de las sustancias orgánicas adsorbidas, tal cual se ha observado en los materiales implantables. De la naturaleza del metal y de las características del biofouling molecular formado dependió la composición del microfouling posterior.

Los sustratos más inertes como vidrio, titanio y acero inoxidable presentaban la mayor adherencia de microorganismos, en coincidencia con estudios previos realizados en otros ambientes marinos. Sin embargo, no se observó la correlación directa entre la cantidad de MPE formado y las características tóxicas del sustrato descritas previamente (Marszalek et al, 1979). Sólo en períodos breves de inmersión (3 días) se notó una mayor abundancia de producción de MPE por parte de los microorganismos adheridos sobre las superficies tóxicas (Fig. 30). Tanto las superficies de baja toxicidad (titanio, acero inoxidable, vidrio) como las de alta toxicidad (cobre y aleaciones) se vieron copiosamente cubiertas de MPE, al cabo de dos semanas de exposición, en ambientes naturales. En el cobre y aleaciones, todos con características tóxicas, es difícil distinguir la formación de dicha película debido a la cantidad y variedad de productos de corrosión con los que se entremezcla el material biológico que en muchos casos termina por cubrirlos. En zonas donde dichas capas se han desprendido es posible observar una pátina mucilaginosa sobre el metal atacado (Fig. 47). Previamente se pensaba que esos lugares eran los sitios principalmente colonizados por

microorganismos (Gerchakov, et al 1977) . Sin embargo, las experiencias realizadas con cultivos de laboratorio descritas en el capítulo siguiente y las observaciones por microscopía de transmisión de electrones reportadas con anterioridad (Blunn, 1986) mostraron que las bacterias y el MPE forman películas que se intercalan entre las capas de productos de corrosión. Dicha capa mucilaginosa puede convertirse en una película aislante que protege al material biológico de los iones tóxicos provenientes de la disolución metálica.

La colonización de las superficies tóxicas por parte de microorganismos generadores de abundante cantidad de MPE permite el posterior asentamiento de otros con menor tolerancia de iones tóxicos. La necesidad de los procesos de acondicionamiento previo, más exigentes que en el caso de superficies más inertes, hace que el cobre y aleaciones presenten una baja velocidad de formación de microfouling, especialmente en las primeras etapas. La abundancia y la diversidad de especies se ve limitada por estos motivos.

Si bien los metales menos corrosibles también presentan una copiosa formación de MPE, dicha formación no parece ser un requisito limitante en las primeras etapas de adherencia microbiana. La polución del ambiente portuario en este caso es probablemente el motivo por el cual los microorganismos pretenden aislarse de la agresividad ambiental mediante la producción de MPE, aún cuando el sustrato soporte no les resulte tóxico.

Se observó una notable reducción del número de especies adheridas sobre los cupones sumergidos en aguas del Puerto de Mar del Plata, en relación con datos reportados para el mar abierto. Esta reducción está relacionada directamente con la desaparición de numerosas especies que no resisten los niveles de polución imperantes y al desarrollo significativo de aquéllas resistentes a los mismos. La distribución mensual de especies durante el año siguió las tendencias descritas previamente respecto de la formación de microfouling en materiales inertes (Bastida, 1971 a y b; Brankevich y Bastida, 1992).

La particularidad del ambiente estudiado, en el que varios factores (polución, bajo pH, baja concentración de oxígeno disuelto) interaccionan para condicionar el desarrollo de las comunidades biológicas, impide que exista una correlación estrecha entre la masa del biofouling y la temperatura. Si consideramos la abundancia de especies durante el año, se observa que los protozoos predominan sobre las algas excepto en el mes de enero y en agosto en que existe una gran

proliferación de estas últimas debido probablemente al aumento de la concentración de nutrientes en las aguas (Gómez de Saravia et al, 1989). Los protozoos del género *Zoothamnium* sp que se alimentan principalmente de bacterias, son indicativos del grado de polución existente.

Cuando se comparan muestras sometidas a distintas condiciones de turbulencia se observa que a altas velocidades de flujo, como los tubos de los condensadores, se adhiere abundante material filamentoso en el que quedan atrapadas diatomeas aisladas. La reproducción se ve inhibida en muchos casos por la ausencia de luz. Algunas formas filamentosas son algas y otras adaptaciones de ciertas bacterias para sobrevivir a las condiciones ambientales adversas. Estas bacterias llegan a medir hasta 1 μm de diámetro y 50 μm de largo (Ridgway y Olson, 1981).

Se ha podido verificar que las interacciones metal/solución que conducen a formar películas protectoras se ven modificadas en presencia de las biopelículas. Un caso notable es el de los aceros inoxidable ensayados en agua de mar natural filtrada y sin filtrar, en los que sólo aparecen picaduras en el último caso. Las marcadas oscilaciones del potencial de corrosión en el agua sin filtrar daban cuenta de estos cambios superficiales. En el próximo capítulo se discutirá el efecto del biofilm sobre el valor del PCA.

En presencia de la biopelícula también pueden observarse significativas diferencias en las reacciones electroquímicas superficiales que ocurren sobre los aceros. La reacción del hidrógeno se ve alterada en presencia del biofilm y probablemente parte del mismo quede atrapado (Fig. 46) por problemas difusionales o porque su oxidación se vea de alguna forma catalizada por los componentes de biopelícula.

V. ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES ALEACION COBRE-NIQUEL 70/30/AGUA DE MAR NATURAL Y SINTETICA.

Efecto del biofouling sobre la estructura de las capas de productos de corrosión y sobre el valor del potencial a circuito abierto.

El material constitutivo de los tubos de los condensadores de la central Termoeléctrica de Mar del Plata es la aleación cobre-níquel 70/30. La alta resistencia a la corrosión generalizada, su alta conductividad térmica así como sus propiedades anti-incrustantes son las principales causas que motivan su uso. Sin embargo, los tubos presentan ataque localizado, generalmente combinado con la erosión de las capas pasivas. El comportamiento de las aleaciones cobre-níquel frente a la corrosión depende de la naturaleza y las características de la película pasiva formada sobre la aleación. Si bien las técnicas modernas de análisis y observación han contribuido a la caracterización de las películas pasivas (Kato y Pickering, 1984, Chauhan y Gadiyar, 1985) y del comportamiento del cobre-níquel en soluciones artificiales (North y Pryor, 1970, Blundy y Pryor, 1972, Kato et al, 1980), el comportamiento de la aleación en las condiciones operativas es muchas veces diferente debido a que existen complejas interacciones con los componentes biológicos del agua de mar natural.

En este capítulo se analizarán las transformaciones que sufren las superficies de los tubos de los intercambiadores de calor (cobre-níquel 70/30) al ser sumergidas en agua de mar natural durante distintos períodos. Se compararán estos resultados con los obtenidos en estudios de laboratorio realizados con soluciones estériles e inoculadas con microorganismos y con experiencias realizadas con bronce aluminio (utilizado en la construcción de tubos de intercambiadores de calor de la Central Termoeléctrica de Necochea).

EXPERIMENTAL

En las experiencias de laboratorio se utilizaron discos de cobre-níquel 70/30 de 38 mm² de área que fueron pulidos con esmeriles 320, 400 y 600, posteriormente con pasta de diamante y finalmente con alúmina (1 µm). Los cupones pulidos fueron lavados sucesivamente con acetona y agua doblemente destilada. Se utilizó un electrodo nuevo para cada experiencia. Las experiencias se llevaron a cabo en una celda electroquímica convencional termostata a 25 C.

Como electrolito se utilizaron agua de mar natural filtrada con una membrana tipo Millipore, agua de mar artificial y soluciones preparadas con mezclas de $X \text{ NaCl} + Y \text{ Na}_2\text{SO}_4$ ($0 \leq X \leq 0,5 \text{ M}$; $0 \leq Y \leq 0,023 \text{ M}$).

Las experiencias electroquímicas consistieron en barridos triangulares de potencial realizados entre $-0,8 \text{ V}$ (ECS) y varios límites anódicos. Se registraron también transitorios de corriente a potenciales predeterminados E_t sobre electrodos que previamente habían sido potenciostatizados a $-1,3 \text{ V}$ (ECS) durante 90 s, para asegurar una condición inicial reproducible.

En las experiencias realizadas *in situ* se utilizaron discos de cobre-níquel de 18 mm de diámetro que fueron pulidos con papel de esmeril 320 y 600.

RESULTADOS

Resultados de las experiencias realizadas en el Puerto de Mar del Plata

Después de su inmersión en el agua de mar el aspecto superficial de las muestras de la aleación cobre-níquel cambiaba notablemente. Inicialmente se veían de color plateado brillante, pero luego de pocos días de inmersión cambiaban su color a marrón dorado.

Las observaciones de MEB de los cupones de cobre-níquel expuestos al agua de mar natural por 5 días (Fig. 48) revelaron la formación de una película porosa sobre la que luego comenzaban a precipitar partículas inorgánicas (Fig. 49). En ciertas regiones presentaban grietas que parecían seguir los límites de grano (Fig. 50). Posteriormente las partículas precipitadas formaban una película poco adherente sobre la que se observaban grietas (Fig. 51). La profundidad de las mismas aumenta con el transcurrir del tiempo. El análisis a través de EDXA de las películas formadas durante distintos períodos de exposición reveló una notable diferencia en la composición. Se encontraron concentraciones de Fe y S más altas para 14 días de exposición que para 7 días (Fig. 52 a y b). Además aparecieron señales de Ca, Mg y Si luego de dos semanas de exposición, estando ausentes en las películas de 1 semana. La señal de cloro encontrada en las grietas muestra un nivel más alto que el encontrado en la película, así como una disolución

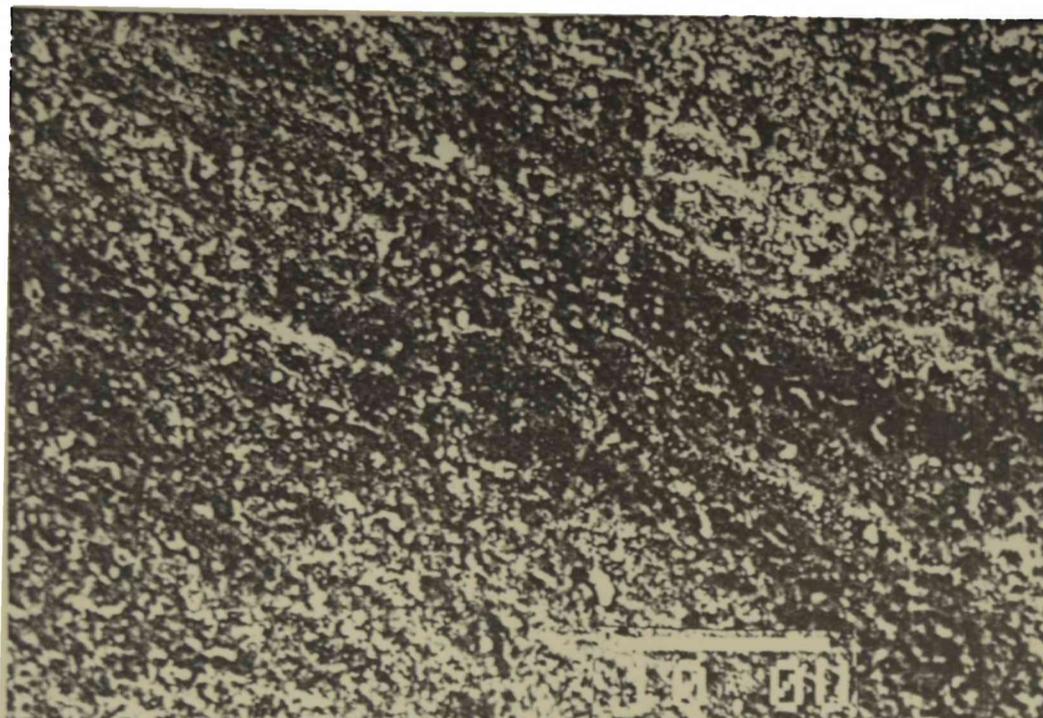


Fig. 48: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de la aleación cobre-níquel 70/30 luego de 5 días de inmersión en agua de mar natural. Se observa la formación de una película de productos de corrosión sobre la superficie (X1500).

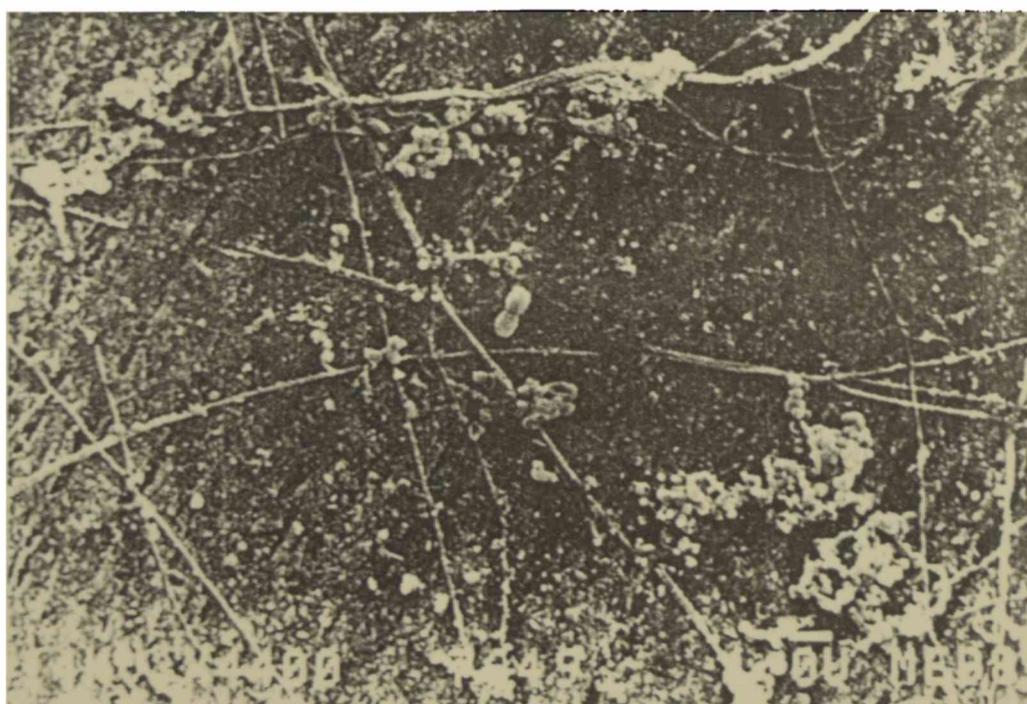


Fig. 49: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de la aleación cobre-níquel 70/30 luego de 7 días de inmersión en agua de mar natural. Se observa la presencia de material inorgánico precipitado y escasas bacterias adheridas sobre la película de productos de corrosión (X4400).

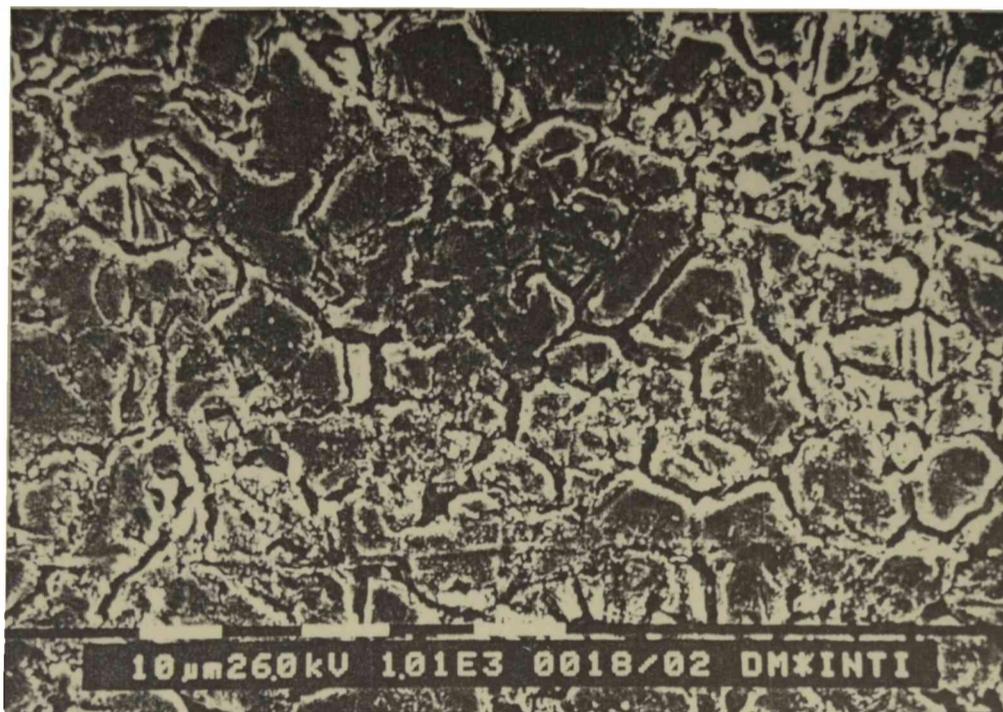


Fig. 50: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de la aleación cobre-níquel 70/30 luego de 7 días de inmersión en agua de mar natural. Se observa la presencia de grietas que parecen seguir la ubicación de los límites de granos sobre la película de productos de corrosión (X2600).

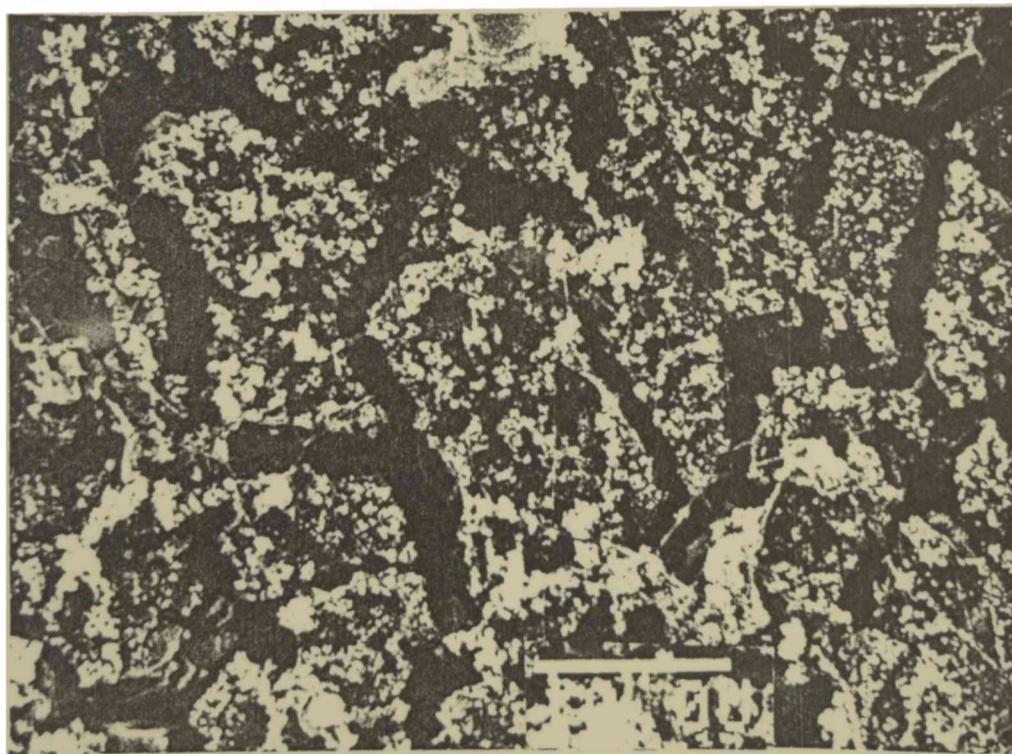


Fig. 51: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de la aleación cobre-níquel 70/30 luego de 14 días de inmersión en agua de mar natural. Se observa la presencia de grietas más anchas y profundas que las encontradas después de una semana de inmersión. La capa de productos de corrosión se halla parcialmente cubierta de material biológico e inorgánico precipitado (X1500).

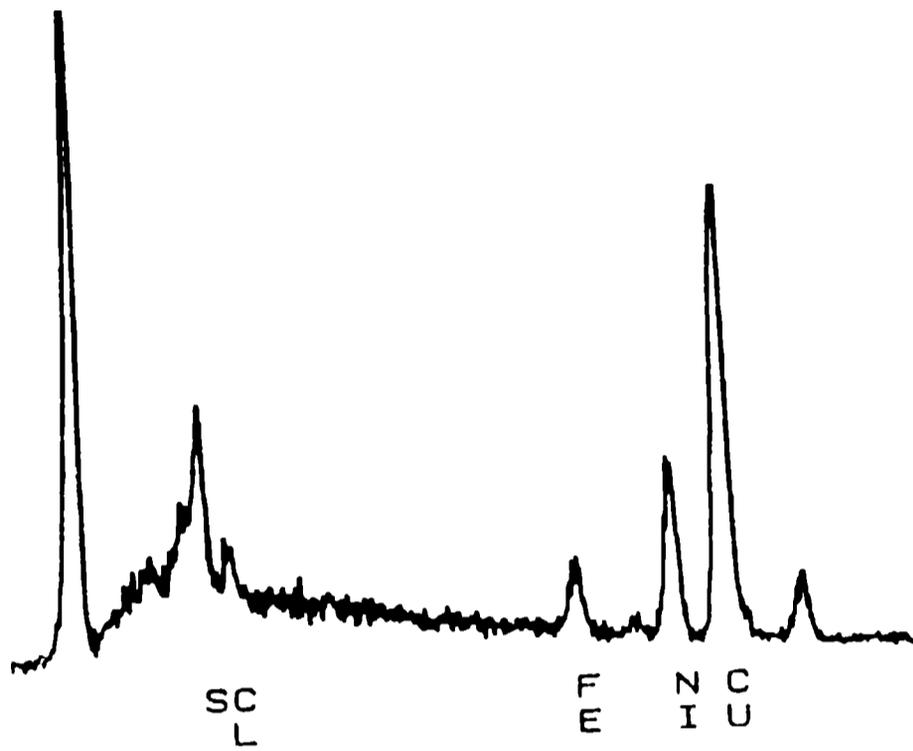


Fig. 52a

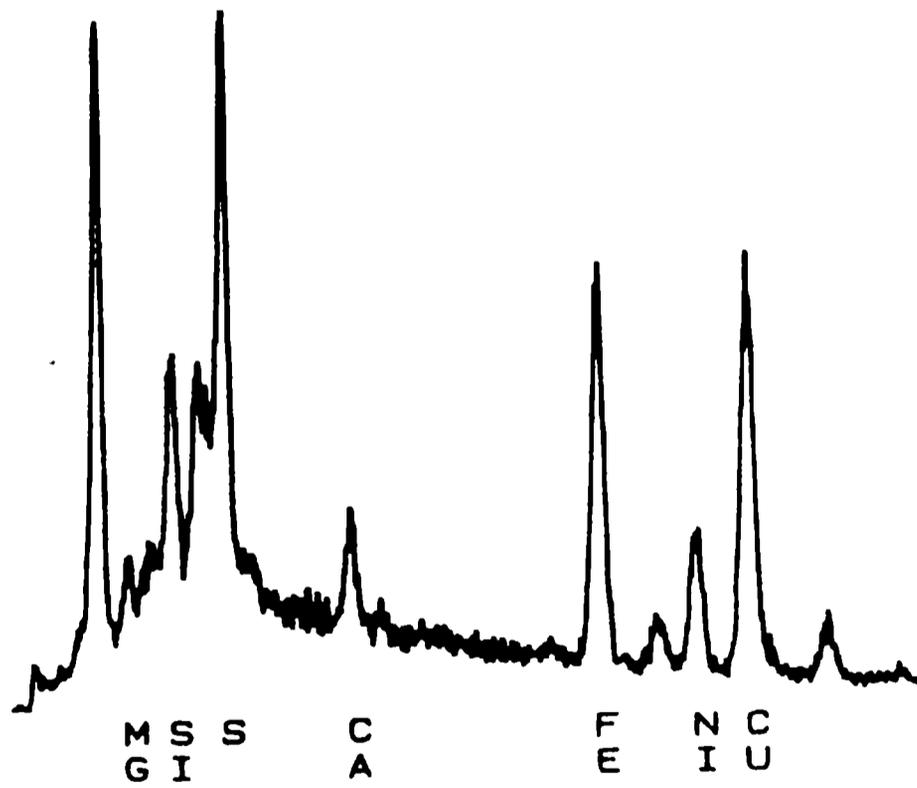


Fig. 52 b

Fig. 52: Análisis de la composición de las capas superficiales a través de EDXA de una muestra de la aleación cobre-níquel 70/30 realizada luego de:

- a) 7 días de inmersión
- b) 14 días de inmersión.

preferencial del cobre en las primeras. Al remover las capas superficiales se pudo observar ataque intergranular sobre la superficie del metal, coincidiendo con las grietas superficiales (Fig. 53 a y b). El ataque intergranular observado es más severo para períodos de exposición más prolongados. En el fondo de las grietas en un comienzo y posteriormente sobre toda la superficie aparecieron pequeñas esferas de productos de corrosión que a través del análisis por EDXA mostraron fuertes señales de Cu por lo que podrían atribuirse a Cu_2O o cobre puro.

Los cupones de 28 y más días de exposición mostraron regiones donde el ataque era muy severo y otras en las que se observaban distintas capas de productos de corrosión (Fig. 54) de naturaleza no uniforme, algunas de las cuales parecían formar pequeñas ampollas que se resquebrajaban por deshidratación (Fig. 55) y al desprenderse dejaban ver el metal con ataque intergranular y cristales precipitados en los límites de grano (Figs. 56 y 57). Se analizó la composición superficial a través del EDXA en las distintas capas y productos de corrosión formados que fueron nombrados con las letras A-H. La distribución de las capas se halla esquematizada en la Fig. 58 y la composición de las mismas se detalla en la Fig. 59 (a y b). Desde el metal base (G) hacia la superficie se distinguen cuatro capas de productos de corrosión: la A muy fina y adherente y la C, la D y la E de mayor espesor. Las capas D y E a veces se desprenden por lo que la C queda a la vista, formando pequeñas ampollas. Estas ampollas al romperse (H) dejan ver al metal base cubierto con una fina película (A) y con un marcado ataque intergranular que muestra las grietas (B) en las cuales aparecen señales de cloro. La capa externa E presenta un alto porcentaje de azufre en su composición. La capa D, también presenta azufre y muestra un alto nivel de níquel y hierro en relación al metal base. Las capas más externas D y E presentan una estructura inhomogénea, y parecen estar formadas por material particulado, lo que les da un aspecto poroso. La capa más interna C tiene un alto contenido en níquel, superior al de las capas D y E. En los límites de grano primero y posteriormente sobre toda la superficie A se hallaron pequeños cristales que podrían corresponder a cobre puro u óxido de cobre (F) (Fig. 57). Estos cristales coalescen y forman cristales mayores.

Las medidas de PCA vs. tiempo realizadas *in situ* durante 40 días muestran valores de potencial que varían entre -0.52 y -0.1 V (ECS) (Fig. 60). En cambio, los valores del PCA realizados con agua de mar artificial y agua de mar filtrada oscilan entre -0,30 y -0,18 V (ECS).



Fig. 53a

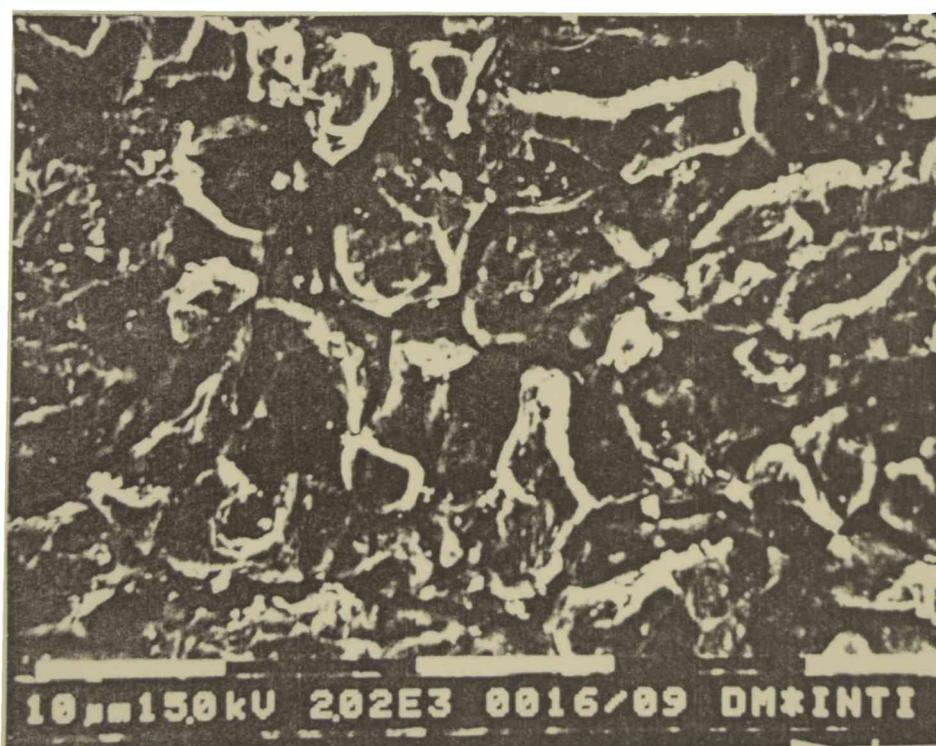


Fig. 53b

Fig. 53: Microfotografía obtenida a través del MEB de muestras de la aleación cobre-níquel 70/30 sumergidas en agua de mar natural después de la remoción de la capa de productos de corrosión. Se observa el ataque intergranular en metal base (X2020).

a) después de 7 días de inmersión. Comparar con Fig. 50.

b) después de 14 días de inmersión. Comparar con Fig. 51.

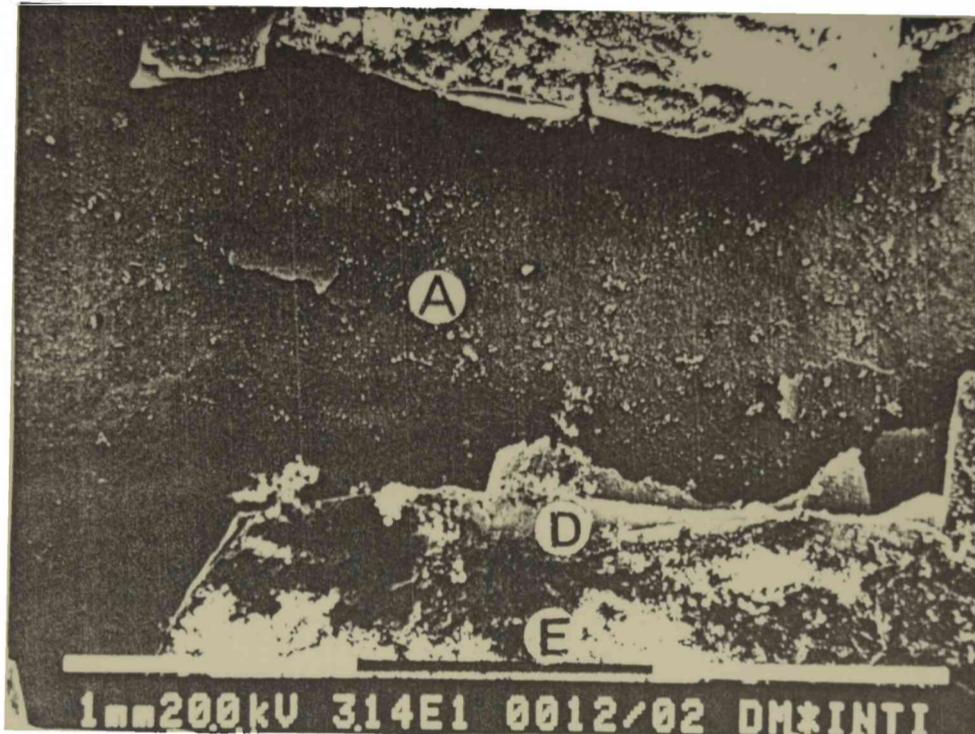


Fig. 54: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de la aleación cobre-níquel 70/30 luego de 35 días de inmersión en agua de mar natural (X31). Se observa la formación de varias capas de productos de corrosión y distintas regiones microestructurales (A, D, E) cuya composición se especifica en la Fig. 59.

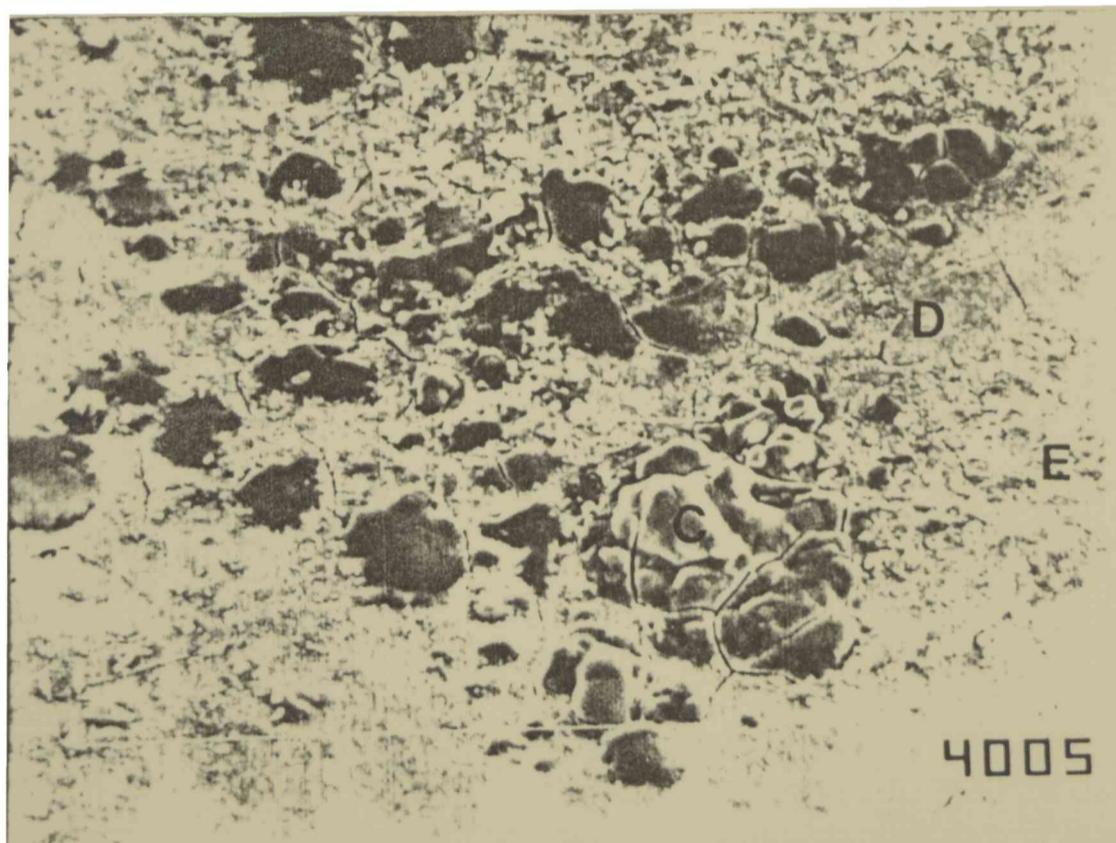


Fig. 55: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de la aleación cobre-níquel 70/30 luego de 28 días de inmersión en agua de mar natural (X7500). Se observa la formación de ampollas (C) y capas de productos de corrosión (D, E) cuya composición se especifica en la Fig. 59.



Fig. 56: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de la aleación cobre-níquel 70/30 luego de 28 días de inmersión en agua de mar natural (X400). Se observa la formación de varias capas de productos de corrosión y distintas regiones microestructurales (A, D, E, H) cuya composición se especifica en la Fig. 59.

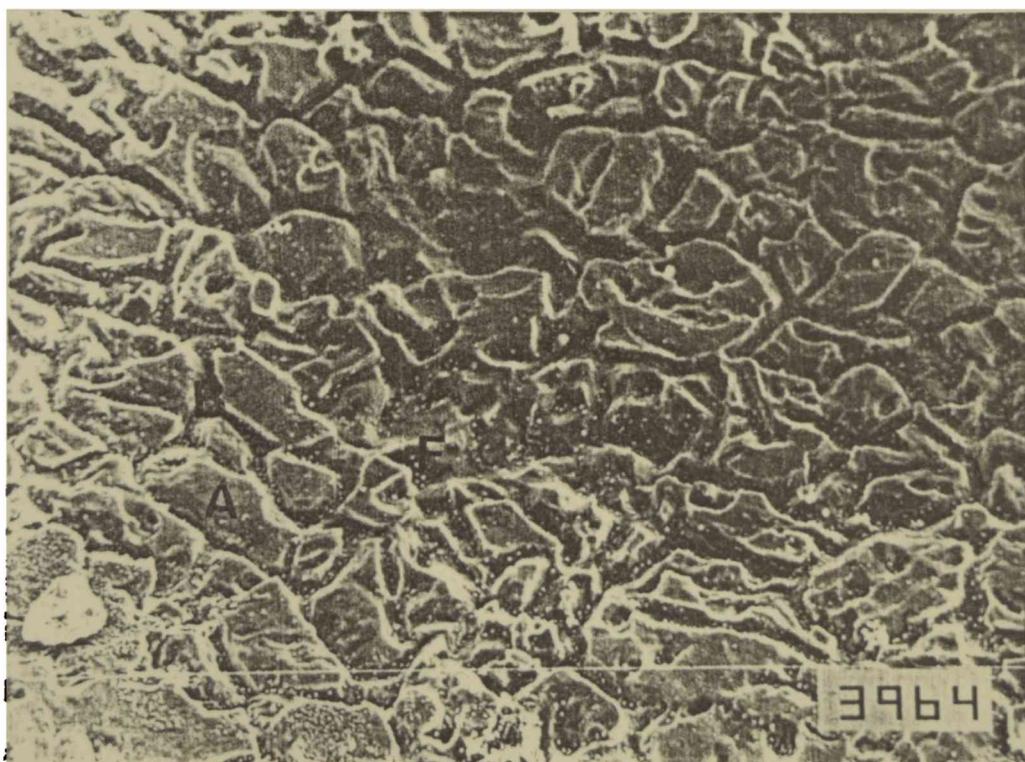


Fig. 57: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de la aleación cobre-níquel 70/30 luego de 28 días de inmersión en agua de mar natural (X1000). Se observa el detalle del ataque intergranular mostrado en la Fig. 56 y los cristales (F) depositados en los límites de granos (B) cubiertos por una película adherente (A) y el metal base (G). La composición de los mismos se especifica en la Fig. 59.

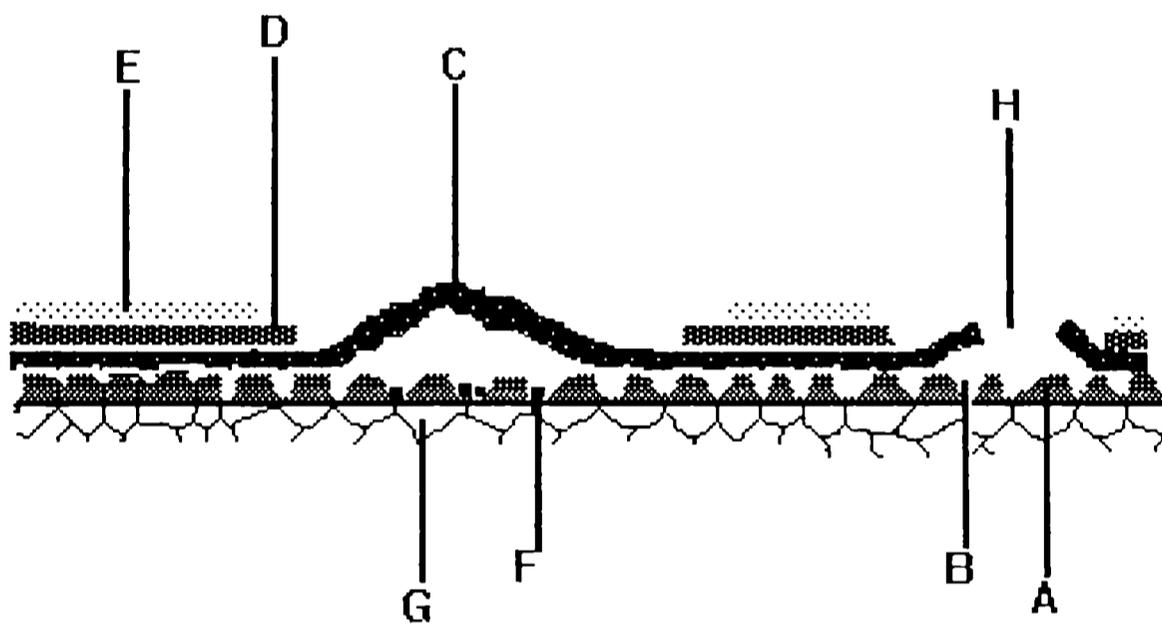


Fig. 58: Representación esquemática de la distribución de los productos de corrosión de la aleación cobre-níquel 70/30 de acuerdo a las Figs. 54-57.

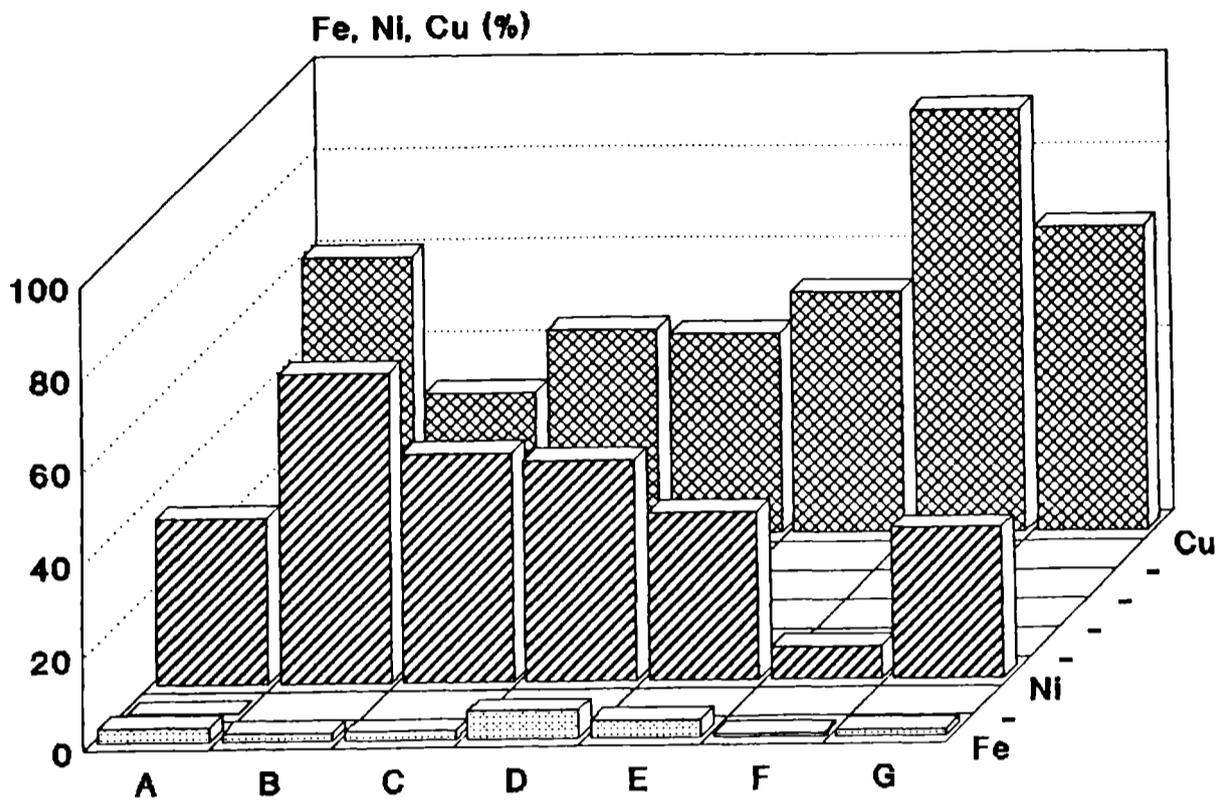


Fig. 59a

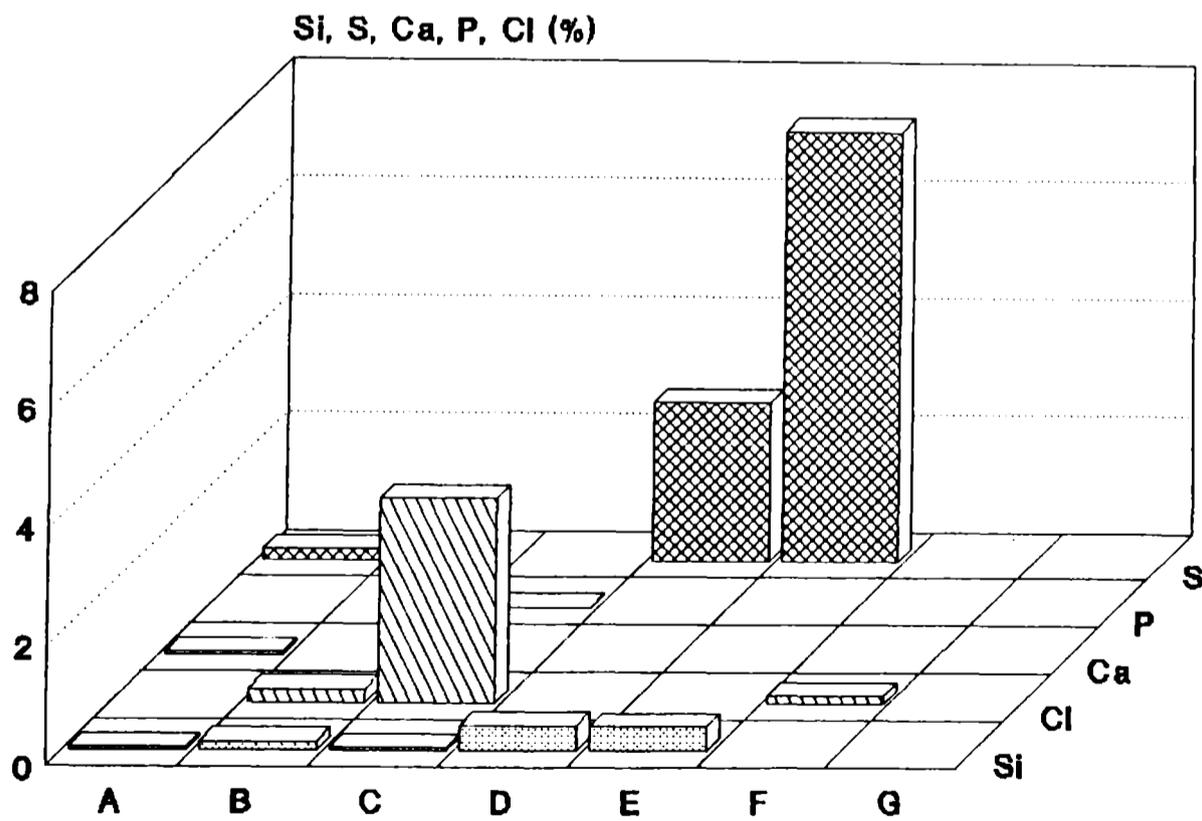


Fig. 59b

Fig. 59: Análisis de la composición de las regiones identificadas como A-H en las Figs. 54-57.

a) Fe, Ni, Cu (%).

b) Si, S, Ca, P, Cl. (%).

Resultados obtenidos en el laboratorio

Experiencias electroquímicas

Estudios potenciodinámicos realizados con la aleación cobre-níquel 70/30 utilizando distintos medios electrolíticos.

Teniendo en cuenta que las aleaciones cobre-níquel sumergidas en agua de mar forman varias capas de productos de corrosión en las que se entremezcla el material biológico, se consideró necesario realizar un estudio electroquímico potenciodinámico detallado que permitiera obtener información acerca de la composición, estructura y distribución de dichas capas. Con ese fin se realizaron estudios con sistemas simples a los que progresivamente se les fue incrementando su complejidad. Se comenzó analizando la respuesta electroquímica del cobre puro en soluciones de NaCl, para luego analizar la aleación cobre-níquel 70/30 en NaCl y más tarde soluciones salinas más complejas para concluir con el agua de mar natural.

La Fig. 61 muestra la curva de polarización anódica obtenida con cobre puro en solución de NaCl 0,5 M desaireada. Puede observarse un pico agudo a $-0,04$ V, seguido de un incremento de corriente con un pequeño pico en $0,14$ V. A potenciales más anódicos la corriente se incrementa nuevamente y aparecen oscilaciones. Si la misma experiencia se repite con una aleación cobre-níquel 90/10 se observa un desplazamiento del primer pico en el sentido anódico (Gómez de Saravia et al., 1990), el pico se hace más ancho y el incremento posterior de la corriente es menor. En la Fig. 62 se muestra el barrido triangular de potencial (velocidad de barrido = $0,001$ V/s) correspondiente a la aleación cobre-níquel 70/30. Puede observarse que el primer pico (I_a) se desplazó en sentido anódico (potencial de pico $0,12$ V) respecto al correspondiente al cobre puro ($-0,04$ V) y a la aleación cobre-níquel 90/10 ($0,04$ V) (Gómez de Saravia et al., 1990). Este pico, está relacionado con el pico de corriente catódica (I_c) registrado a $-0,16$ V. La carga del pico I_c es menor que la correspondiente al I_a . Después de alcanzar el valor máximo de corriente anódica en I_a , la corriente decrece bruscamente para formar luego un *plateau*.

Para analizar la dependencia con el pH de la reacción que da lugar a la formación del pico I_a , se realizaron experiencias a pH = 8,0; 8,8; 10,5. Pudo observarse que el pico I_a se desplazaba en sentido catódico al incrementar el pH (Fig. 63 a). La altura de dicho pico depende además de la concentración de iones

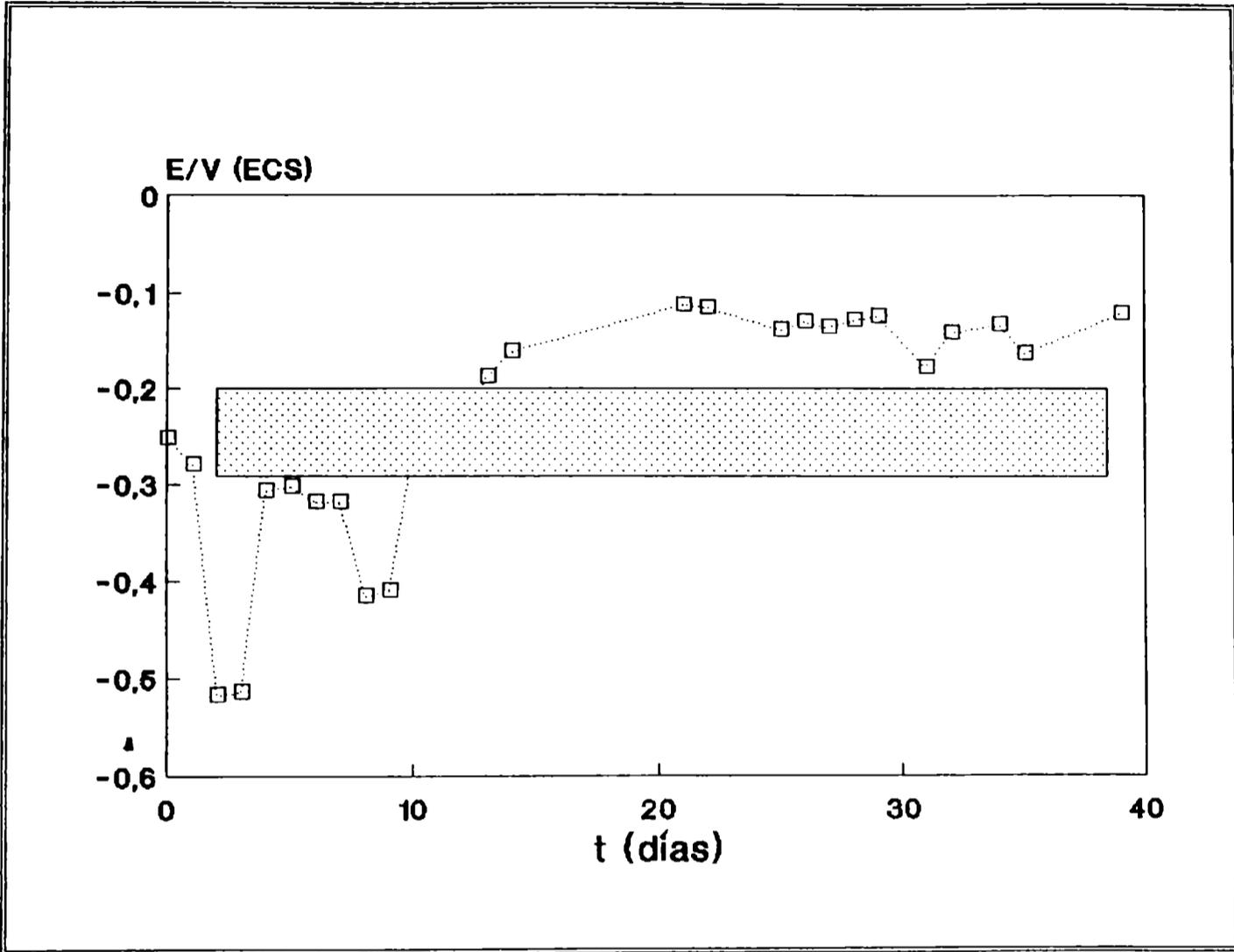


Fig. 60: Potencial a circuito abierto (PCA) vs. tiempo correspondiente a la aleación cobre-níquel 70/30 sumergida en agua de mar natural. La barra indica la región de potenciales en que oscila el PCA en agua de mar sintética.

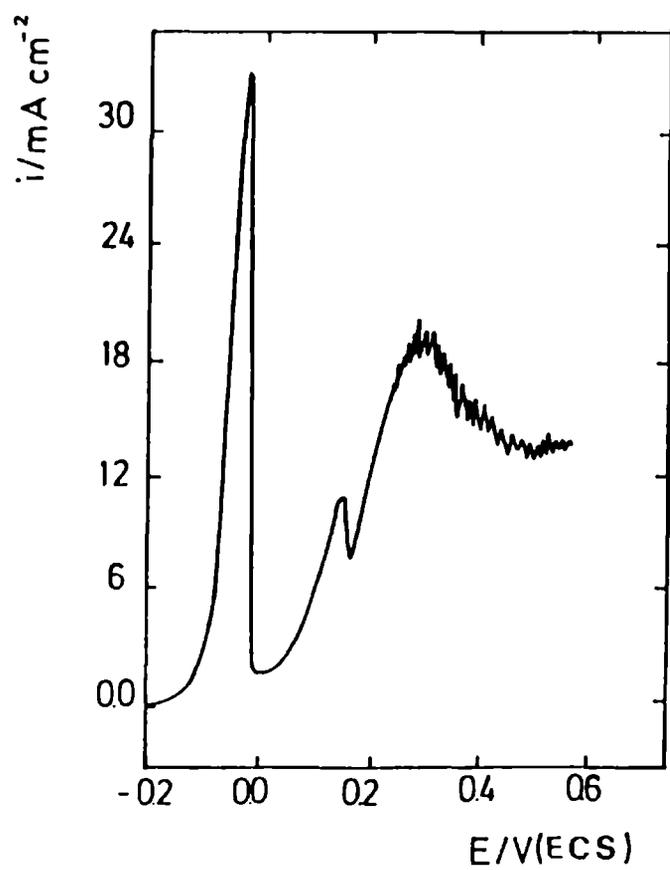


Fig. 61: Voltamperograma correspondiente al barrido de potencial en sentido anódico correspondiente al cobre puro en una solución 0,5 M NaCl, velocidad de barrido: 0,001 V/s.

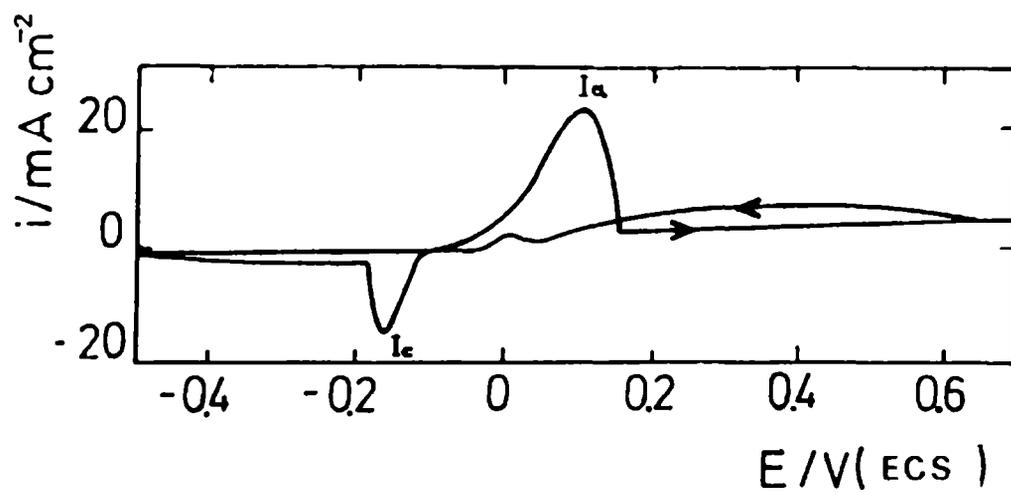


Fig. 62: Voltamperograma correspondiente al barrido de potencial en sentido anódico correspondiente a la aleación cobre-níquel 70/30 en una solución 0,5 M NaCl, velocidad de barrido: 0,001 V/s.

Cl⁻(Fig. 63 b) y de la velocidad de barrido.

Cuando se compararon las experiencias realizadas con NaCl con aquéllas realizadas con agua de mar natural filtrada y soluciones de agua de mar sintética se pudo observar que a potenciales más anódicos que el pico I_a la corriente se incrementa notablemente en todas las soluciones excepto la de NaCl. La adición de Na₂SO₄ a las soluciones de NaCl produjo un efecto similar (Fig. 63 c). Se probaron entonces varias relaciones de concentración cloruro/sulfato para analizar el efecto. Tanto en presencia de cloruros como de sulfatos se registró un pico ancho de corriente anódica (Fig. 64 curvas a y b). Sin embargo, en presencia de ambos aniones simultáneamente y en igual concentración, se registró un cambio notable, ya que se obtuvo una relación lineal potencial/corriente (Fig. 64 curva c). Manteniendo la concentración de sulfatos constante e incrementando la de cloruros se vio que se formaba un pico en 0,12 V cuya altura y agudeza aumentaba gradualmente (Fig. 64 curvas d-f).

A fin de analizar los procesos previos a la formación del pico I_a se realizaron barridos de potencial triangulares a velocidades altas (0,1 V/s) desde -1,0 V hasta distintos límites anódicos entre -0,3 V y 0,2 V (Fig. 65). En 0,2 V comienza a formarse el pico I_a, a velocidades de barrido más bajas dicho pico se desplaza en sentido catódico (Fig. 62). La Fig. 65 muestra que cuando el sentido de barrido de potencial se invierte en 0,2 V se forma un lazo, siendo más altas las corrientes registradas durante el barrido en sentido catódico. Al observar el electrodo justo después de concluir el barrido en sentido anódico se detectó la formación de micropicaduras. Al disminuir paulatinamente el límite anódico de barrido pudo notarse que las contribuciones de corriente C_a, B_a y A_a estaban relacionados con las contribuciones C_c, B_c y A_c respectivamente.

Se realizaron experiencias similares utilizando agua de mar artificial a la que se adicionó Na₂S. En la Fig. 66 (a) se comparan los barridos triangulares de potencial obtenidos antes y después de la adición del Na₂S. Puede observarse un gran incremento de corriente durante el barrido en sentido anódico. El pico II_{2c} se desplazó en sentido catódico y la corriente de los picos III_a y III_c disminuyó. La Fig. 66 (b) muestra que el efecto de los iones cloruros y sulfuros sobre la resistencia a la corrosión del cobre-níquel 70/30 es sinérgico. Para un mismo potencial la corriente registrada en presencia de los dos aniones fue mayor que aquélla obtenida para cada anión individualmente.

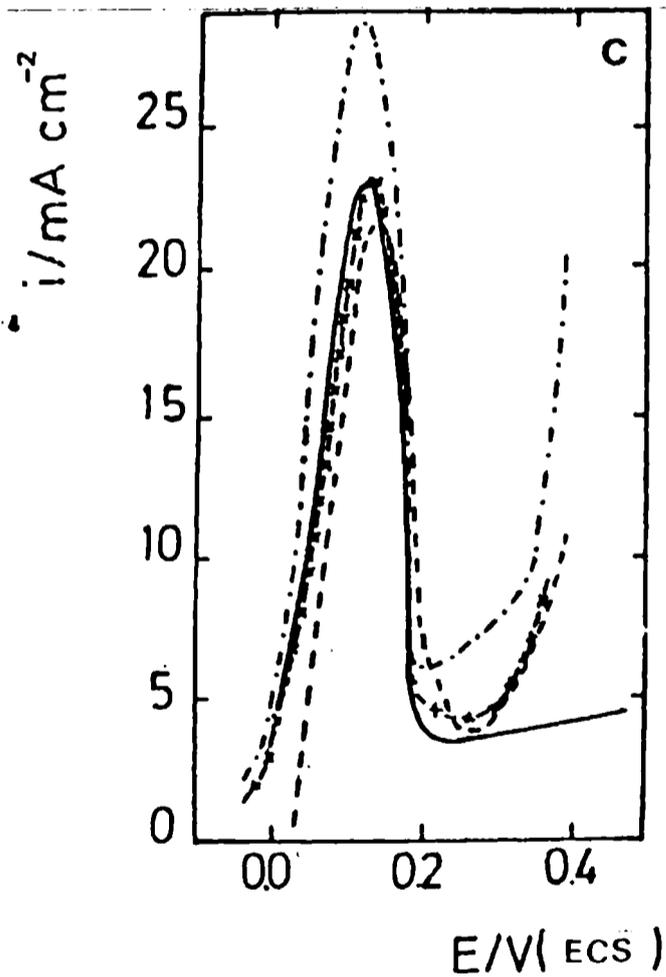
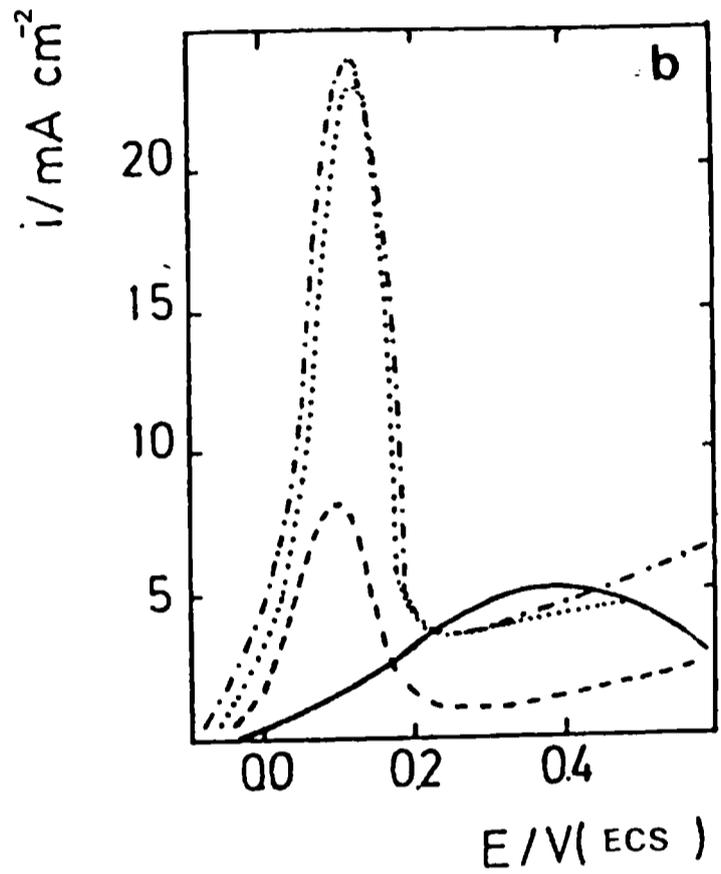
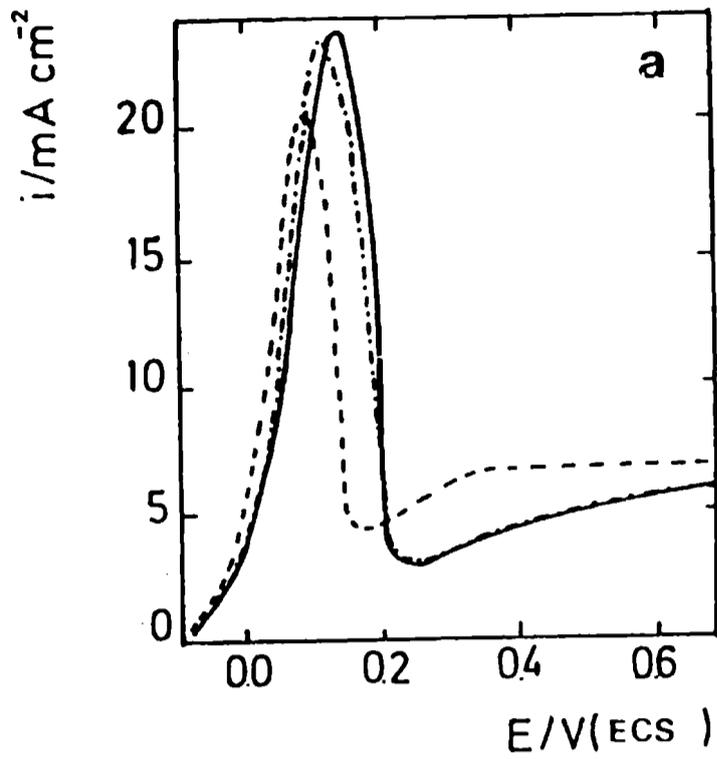


Fig. 63: Efecto del pH, concentración de NaCl y composición del agua de mar sobre los voltamperogramas correspondientes al barrido de potencial en sentido anódico de la aleación cobre-níquel 70/30, velocidad de barrido: 0,001 V/s.

a) solución 0,5M NaCl a distintos pH: (—) pH=8; (-·-·-) pH= 8,8; (- - -) pH=10.

b) soluciones de NaCl de distintas concentraciones: (-·-·-) 0,5M, (.....) 0,4M; (- - -) 0,17M; (—) 0,023M.

c) (-·-·-) agua de mar natural filtrada; (-----) agua de mar artificial; (—) 0,4M NaCl, (x-x-x) 0,4M NaCl + 0,023 Na₂SO₄.

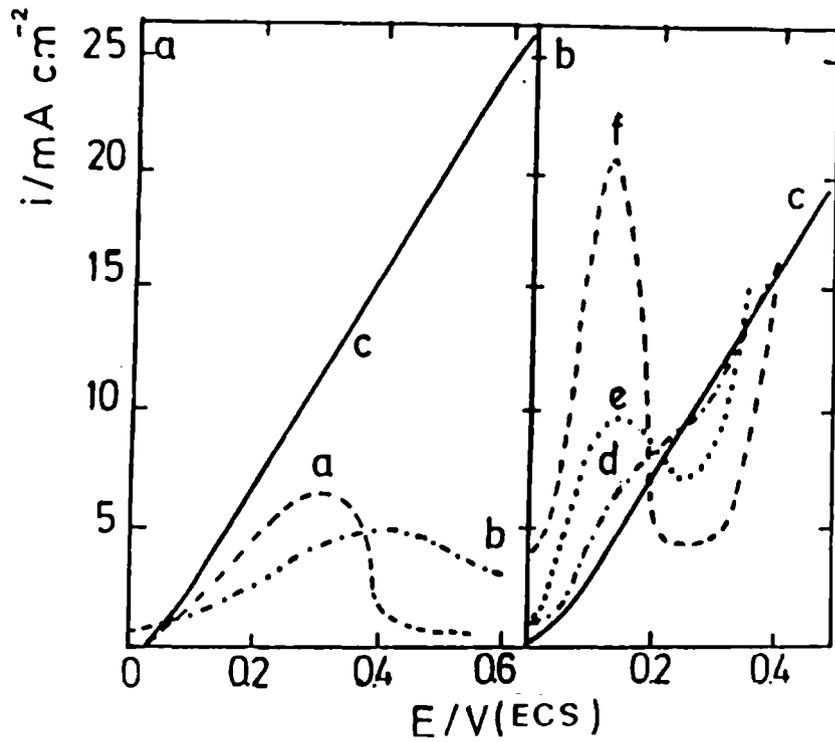


Fig. 64: Efecto de la concentración de los iones cloruros y sulfatos sobre la curva de polarización anódica correspondiente a la aleación cobre-níquel 70/30, velocidad de barrido: 0,001 V/s: 0,023M Na_2SO_4 (curva a); 0,023 NaCl (curva b); 0,023M Na_2SO_4 + 0,023 NaCl (curva c); 0,023M Na_2SO_4 + 0,046 NaCl (curva d); 0,023M Na_2SO_4 + 0,1 NaCl (curva e); 0,023M Na_2SO_4 + 0,4 NaCl (curva f).

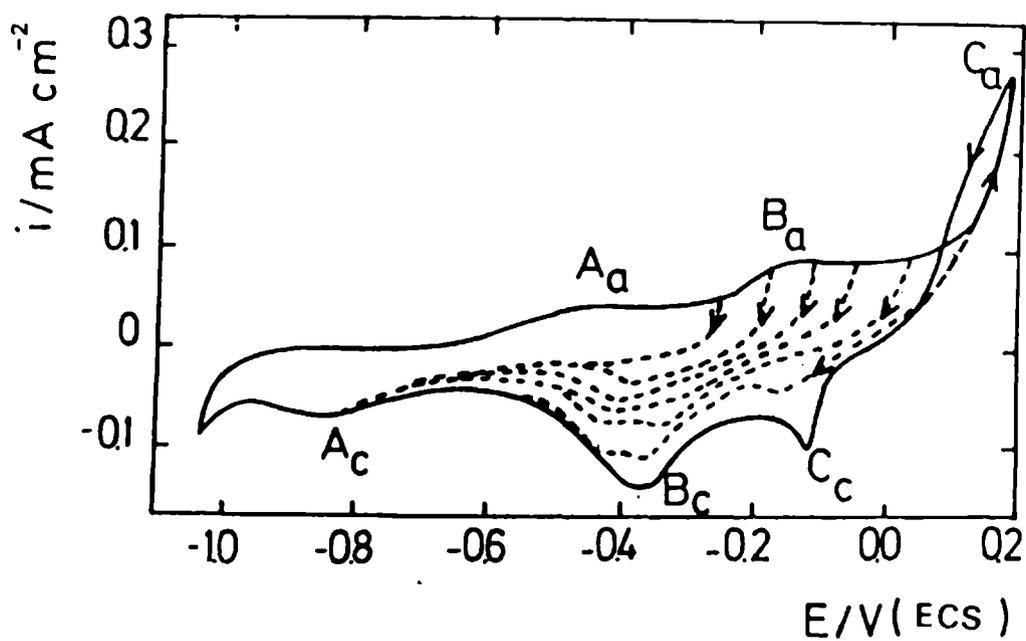


Fig. 65: Barridos triangulares de potencial realizados hasta distintos límites anódicos entre -0,3 V y 0,2 V (ECS) correspondientes a la aleación cobre-níquel 70/30 en agua de mar natural filtrada, velocidad de barrido 0,1 V/s.

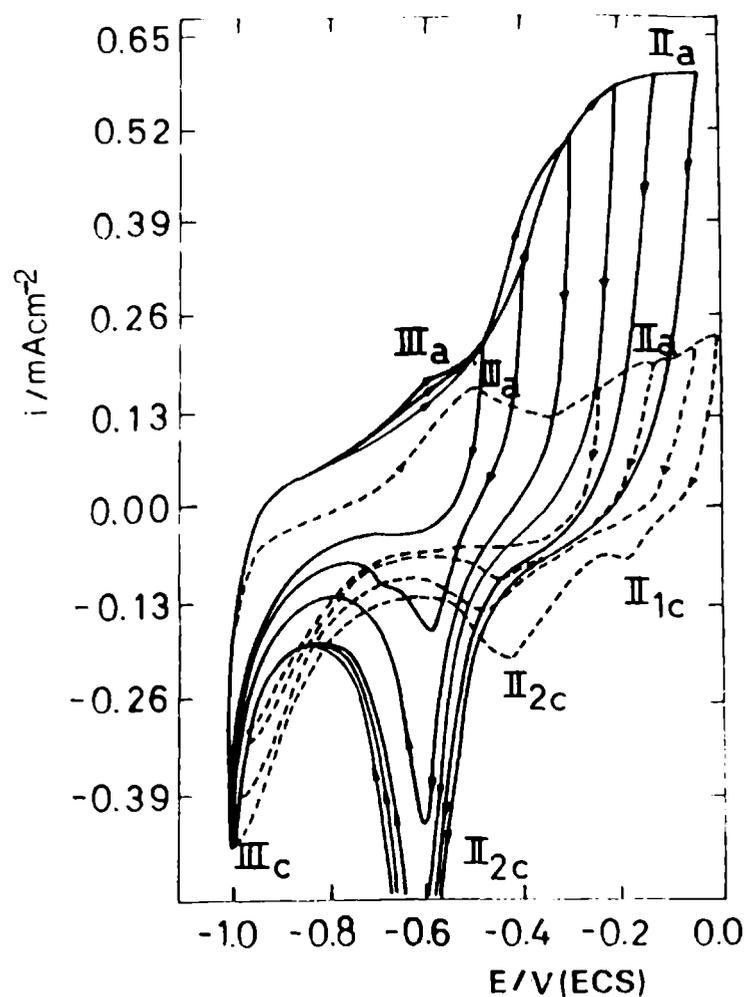


Fig. 66 (a): Barridos triangulares de potencial realizados hasta distintos límites anódicos entre $-0,5$ V y $0,0$ V (ECS) correspondientes a la aleación cobre-níquel 70/30 en agua de mar artificial, velocidad de barrido $0,1$ V/s: (---) agua de mar artificial; (—) agua de mar artificial + $0,001$ M Na_2S .

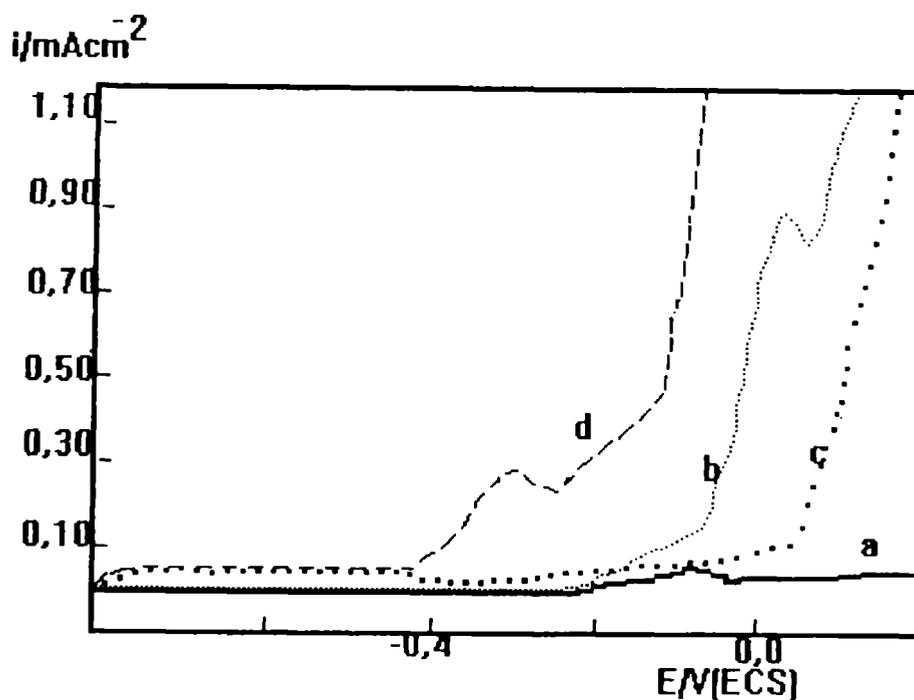


Fig. 66 (b): Barridos de potencial en sentido anódico correspondientes a la aleación cobre-níquel 70/30, velocidad de barrido $0,001$ V/s en: medio C de Postgate (curva a); medio C de Postgate + $0,51$ M NaCl (curva b); medio C de Postgate + $0,001$ M de Na_2S (curva c); medio C de Postgate + $0,51$ M NaCl + $0,001$ M de Na_2S (curva d).

Si el barrido de potencial se detenía en $-0,6$ V y se observaba el electrodo, éste aparecía cubierto de una fina capa de productos de corrosión, de color tornasolado que al ser observada por MEB mostraba un aspecto no uniforme (Fig. 67) similar al observado en ciertas regiones de muestras expuestas en el Puerto de Mar del Plata (Fig. 55)

Medidas de transitorios de corriente

Se registraron transitorios de corriente realizados a potencial constante, cubriendo el rango de potencial comprendido entre $-0,16$ V y $0,3$ V. En la región de potencial comprendida entre $-0,16$ y $-0,09$ V (Fig 68) se observan relaciones corriente tiempo de forma similar, con un aumento brusco inicial de corriente para luego descender abruptamente durante los primeros 5 s y luego más lentamente con valores de corriente que dependen del potencial aplicado. Si se observan las muestras de cobre-níquel luego de realizar la potenciostatización a $-0,12$ V puede verificarse que están cubiertas de una fina capa de productos de corrosión en la que se hallan sumergidas pequeñas esferas, algunas de las cuales coalescen formando partículas mayores. Cuando el electrodo se potenciostatiza a $0,1$ V se distingue la formación de un pequeño hombro (Fig. 69, curva b).

El efecto del oxígeno disuelto en el electrolito puede observarse en la Fig. 70 (a y b). En presencia de oxígeno puede verse que el valor de la corriente es mayor y el potencial del pico se desplaza en sentido catódico (Fig. 70 b).

Experiencias microbiológicas.

A fin de interpretar la variación del potencial de corrosión observada en las experiencias *in situ*, que no se correspondía con las medidas del PCA registradas con agua de mar estéril (natural filtrada y sintética), se realizaron experiencias con cultivos de microorganismos con el objeto de estudiar los posibles efectos de la biopelícula sobre el potencial de corrosión.

Se utilizaron cultivos de una bacteria marina, aislada del agua del puerto de Mar del Plata (*V. alginolyticus*) y mezclas de *V. alginolyticus* y una bacteria sulfato reductora (*D. Vulgaris*).

Se emplearon dos aleaciones de cobre: el cobre-níquel 70/30 y el bronce

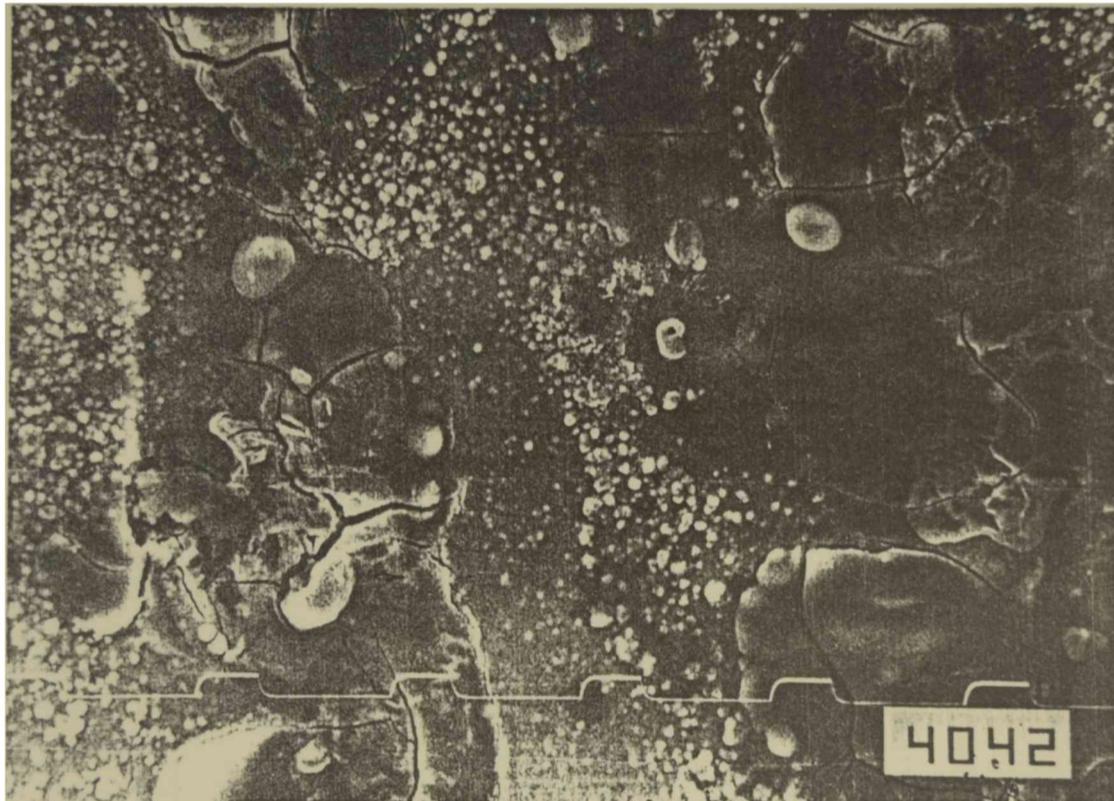


Fig. 67: Microfotografía obtenida a través del MEB correspondiente a una muestra de cobre-níquel 70/30 luego de realizar un barrido potenciodinámico de potencial en agua de mar artificial + 0,001M Na₂S.

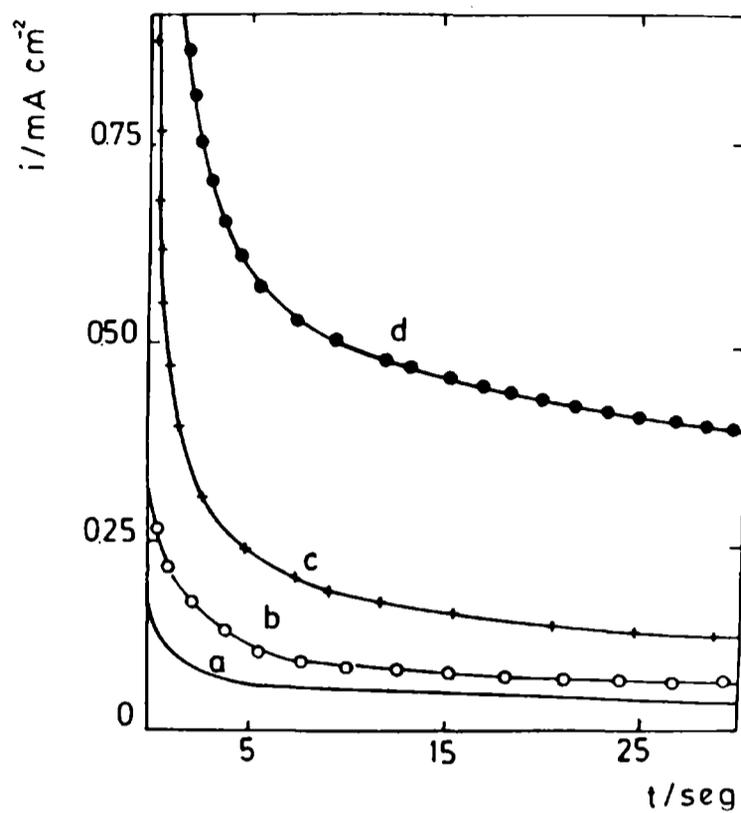


Fig. 68: Curvas corriente vs. tiempo correspondientes a la aleación cobre-níquel 70/30 en una solución 0,5M NaCl potenciostatizada a: -0,16 V (curva a); -0,14 V (curva b); -0,12 V (curva c); -0,09 V (curva d).

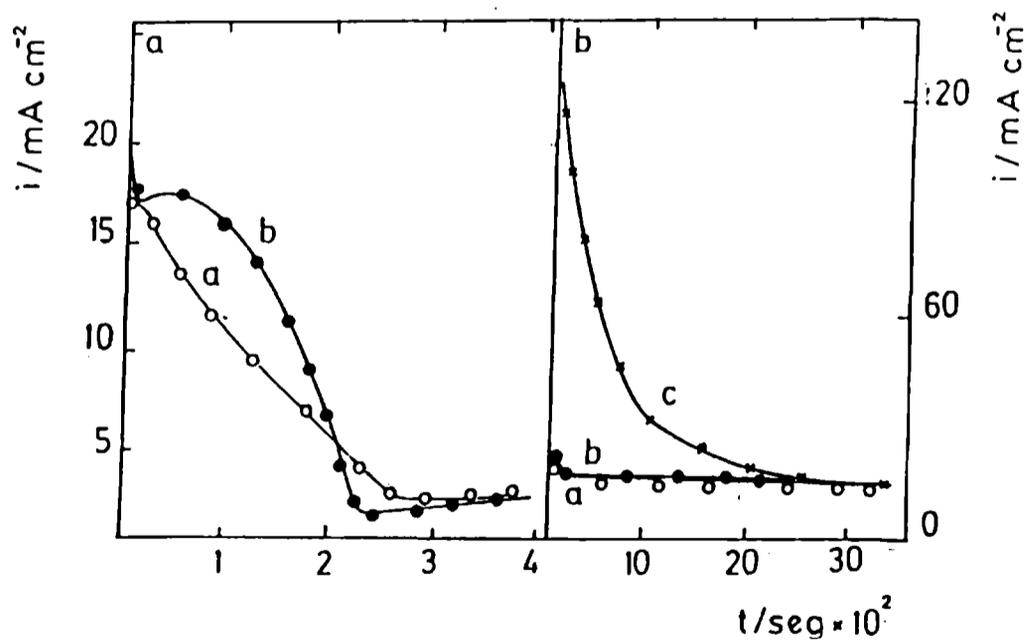


Fig. 69: Curvas corriente vs. tiempo correspondientes a la aleación cobre-níquel 70/30 en una solución 0,5M NaCl potenciostatizada a: 0,05 V (curva a); 0,1 V (curva b); 0,3 V (curva c). Nótese que las partes derecha e izquierda del gráfico tienen diferentes escalas.

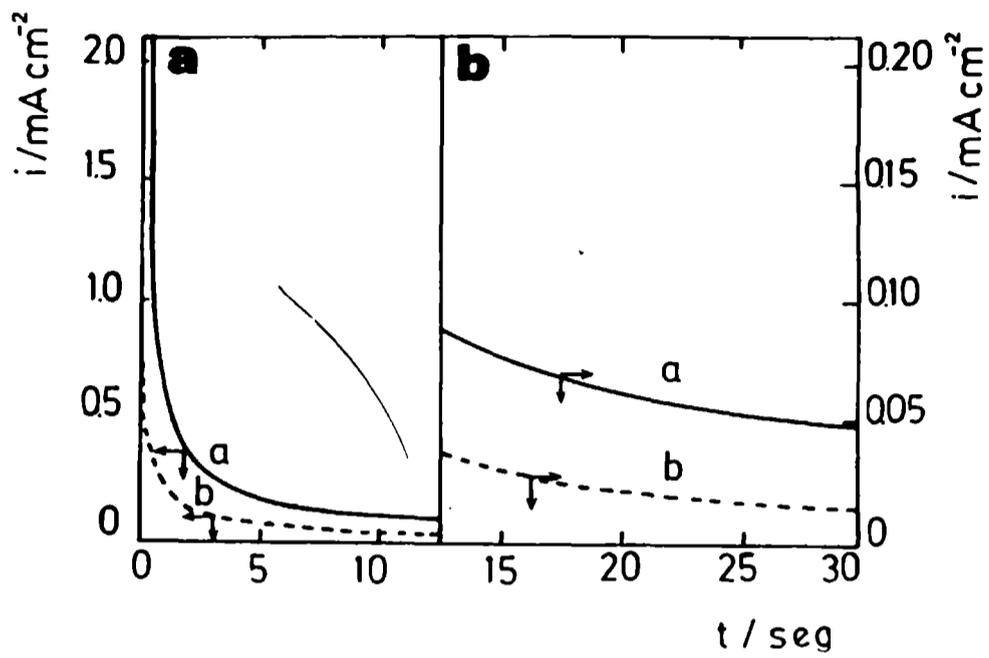


Fig. 70 (a): Efecto de la aereación sobre los transitorios de corriente correspondientes a la aleación cobre-níquel 70/30 potenciostaticada a $-0,12$ V en agua de mar natural filtrada: aireada (curva a); desaireada (curva b). Nótese que las partes derecha e izquierda del gráfico tienen diferentes escalas.

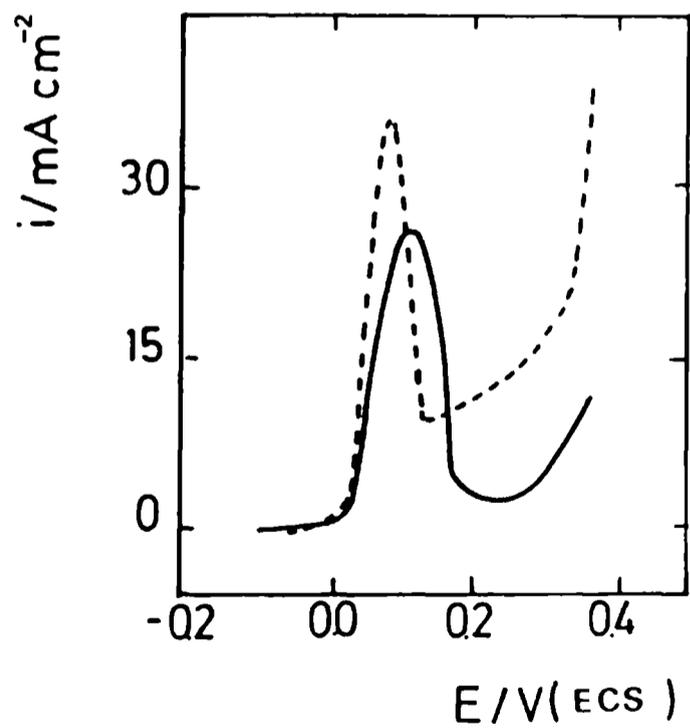


Fig. 70 (b): Efecto de la aereación sobre la curva de polarización anódica correspondiente a la aleación cobre-níquel 70/30, velocidad de barrido: $0,001$ V/s, en agua de mar filtrada: aireada (-----); desaireada (—).

aluminio que fueron sumergidos en agua de mar sintética estéril e inoculada con bacterias, así como medio C de Postgate (con el agregado de 30 g/l de NaCl). Se estudió el efecto del crecimiento bacteriano sobre el PCA en cultivos con y sin aireación forzada.

Cultivos puros de *V. alginolyticus*.

En la Fig. 71 se muestran los valores de número de microorganismos (*V. alginolyticus*), concentración de oxígeno y PCA obtenidos utilizando un fermentador rotativo con aireación forzada. Puede observarse que durante las 8 primeras horas el PCA decrece en coincidencia con el decrecimiento de la concentración de oxígeno debida a la respiración de los microorganismos en su fase exponencial. Posteriormente, en fase estacionaria, la concentración de oxígeno desciende más lentamente. El PCA en cambio, luego de llegar a un mínimo de -0,55 V comenzó a ascender nuevamente alcanzando valores próximos a los iniciales.

En las Fig. 72 y 73 se puede observar la variación del PCA para el bronce aluminio y el cobre-níquel respectivamente en condiciones estáticas. Puede verse que cuando al medio de cultivo no se suministra aireación forzada, el PCA decrece abruptamente desde su valor inicial (c.a. -0,2 V) hasta -0,4 V. Cuando se provee aireación forzada la evolución del PCA difiere marcadamente de la anterior ya que después de un ligero decrecimiento inicial hasta -0,25 V, comienza a ascender nuevamente alcanzando valores mayores o iguales a los iniciales.

Para analizar si la diferencia de valores del PCA estaba exclusivamente ligada a la concentración de oxígeno se trabajó con soluciones de agua de mar sintética estériles con y sin burbujeo de oxígeno y los valores medidos del PCA fueron similares (Fig. 72). Por otra parte si se comparaban, como casos extremos, los PCA de las soluciones estériles con burbujeo de oxígeno y las desaireadas con N₂ (PCA c.a. = -0,35 V), la diferencia en valores absolutos era muy inferior a la observada entre cultivos con y sin burbujeo de oxígeno (Fig. 72).

Con el objeto de estudiar la influencia del medio electrolítico en el PCA se realizaron experiencias utilizando distintos medios. En el caso de la aleación cobre-níquel 70/30 sumergida en un medio de cultivo sin aireación forzada, el PCA alcanzó valores de -0,55 V en agua de mar sintética y -0,65 V en el medio C de Postgate (NaCl 30g/l). Esta diferencia podría atribuirse a la distinta

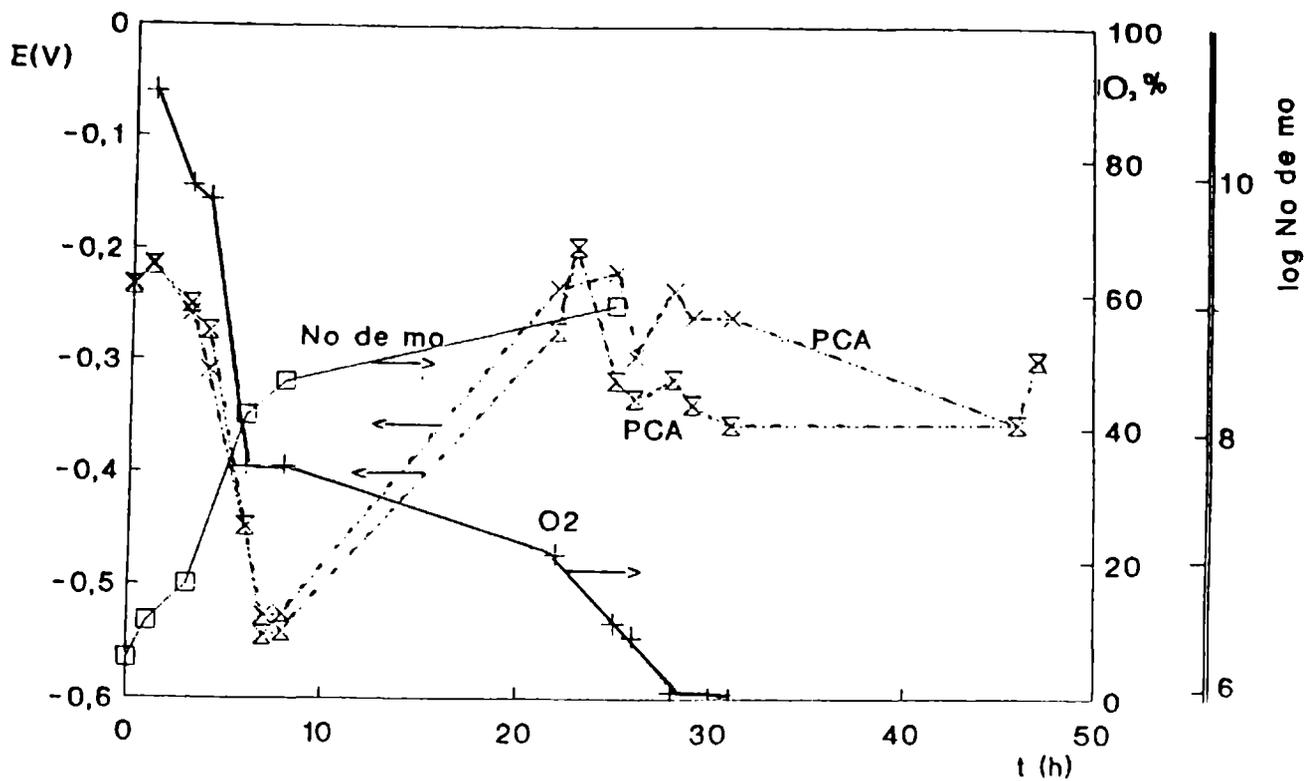


Fig. 71: Gráfico potencial a circuito abierto (PCA) vs tiempo correspondiente a muestras de cobre-níquel 70/30 sumergidas en un fermentador discontinuo agitado; concentración de oxígeno (%) y número de microorganismos vs tiempo de un cultivo de *V. alginolyticus*.

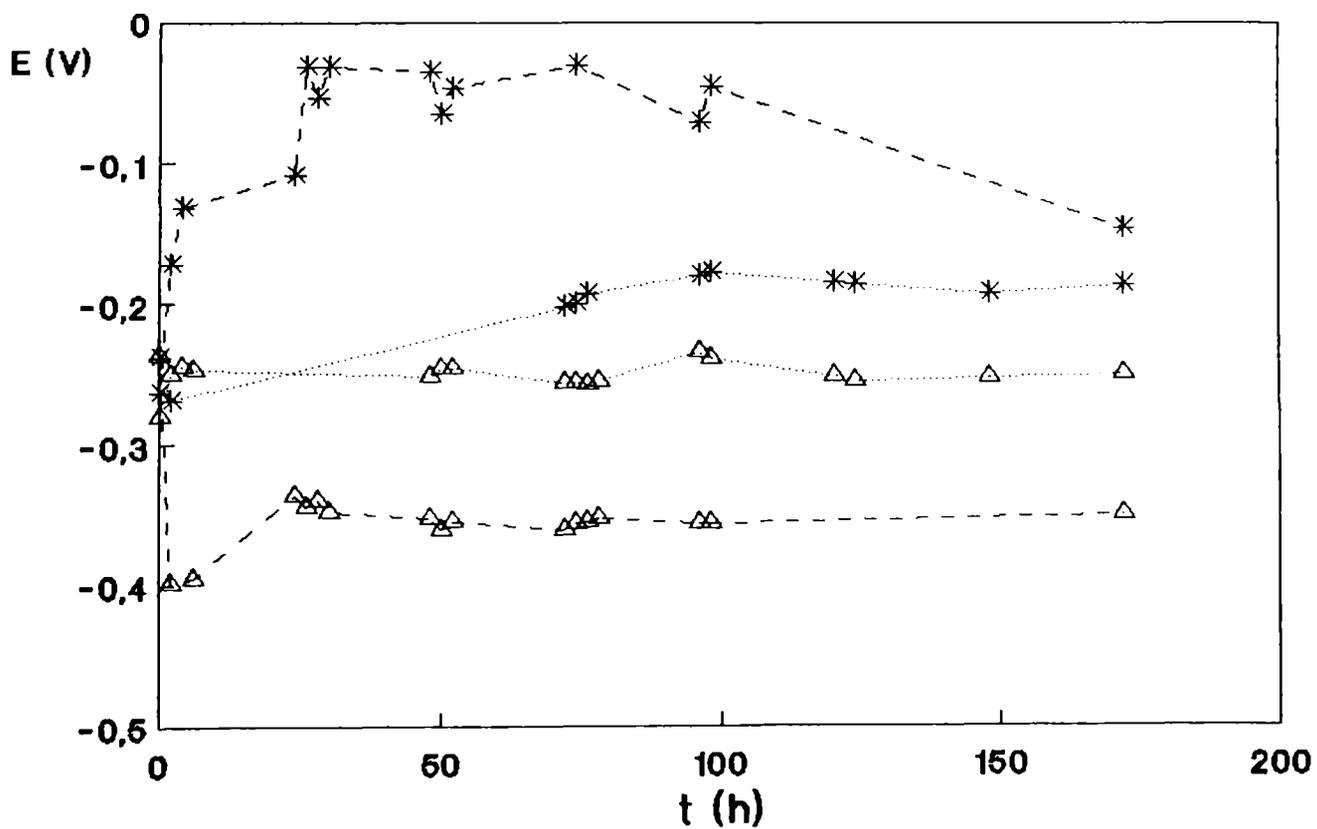


Fig. 72: Potencial a circuito abierto vs. tiempo correspondiente al bronce aluminio sumergido en agua de mar artificial estéril y en agua de mar inoculada con *V. alginolyticus* con (*) y sin (^) burbujeo de aire.

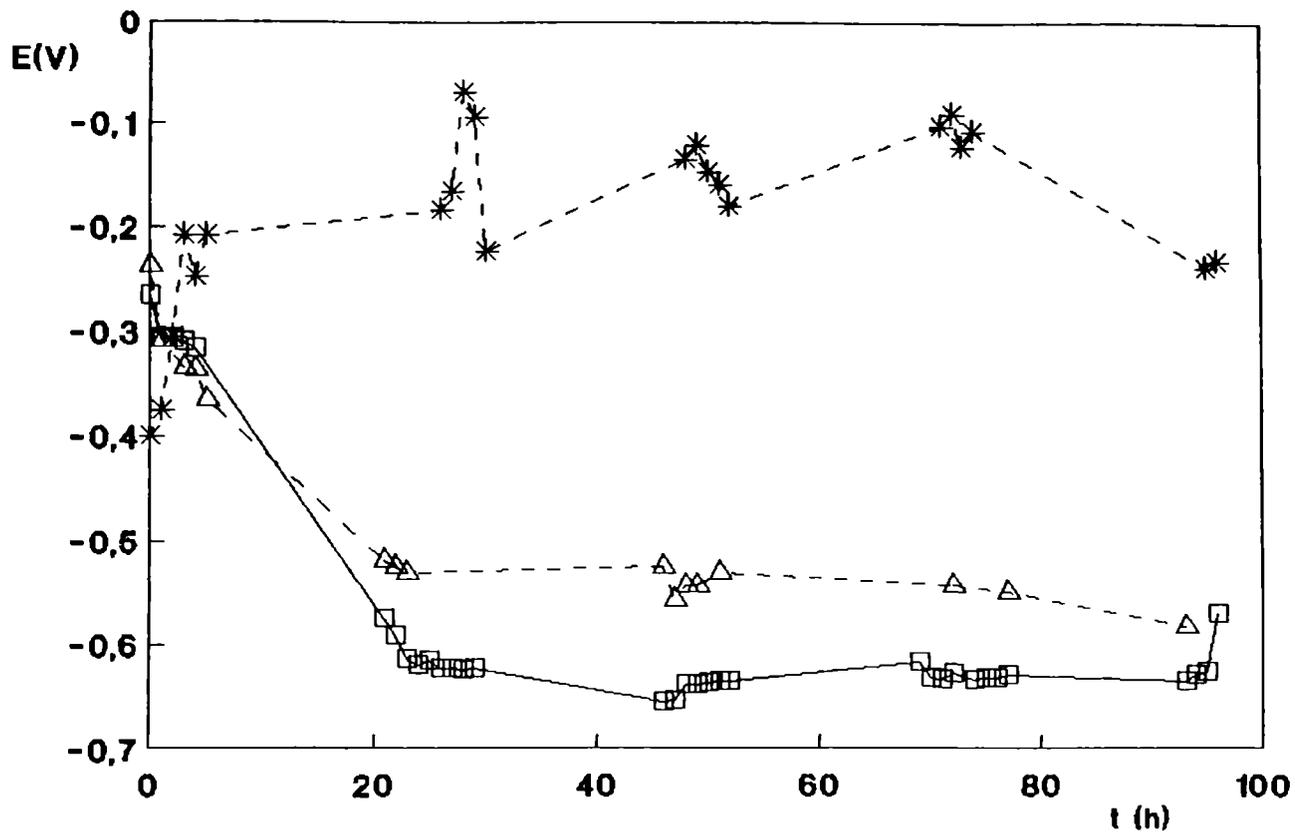


Fig. 73: Potencial a circuito abierto vs tiempo correspondiente a la aleación cobre-níquel 70/30 sumergida en agua de mar artificial inoculada con *V. alginolyticus* (- - -) con (***) y sin (△△△) burbujeo de aire; y en medio C de Postgate (□□□)

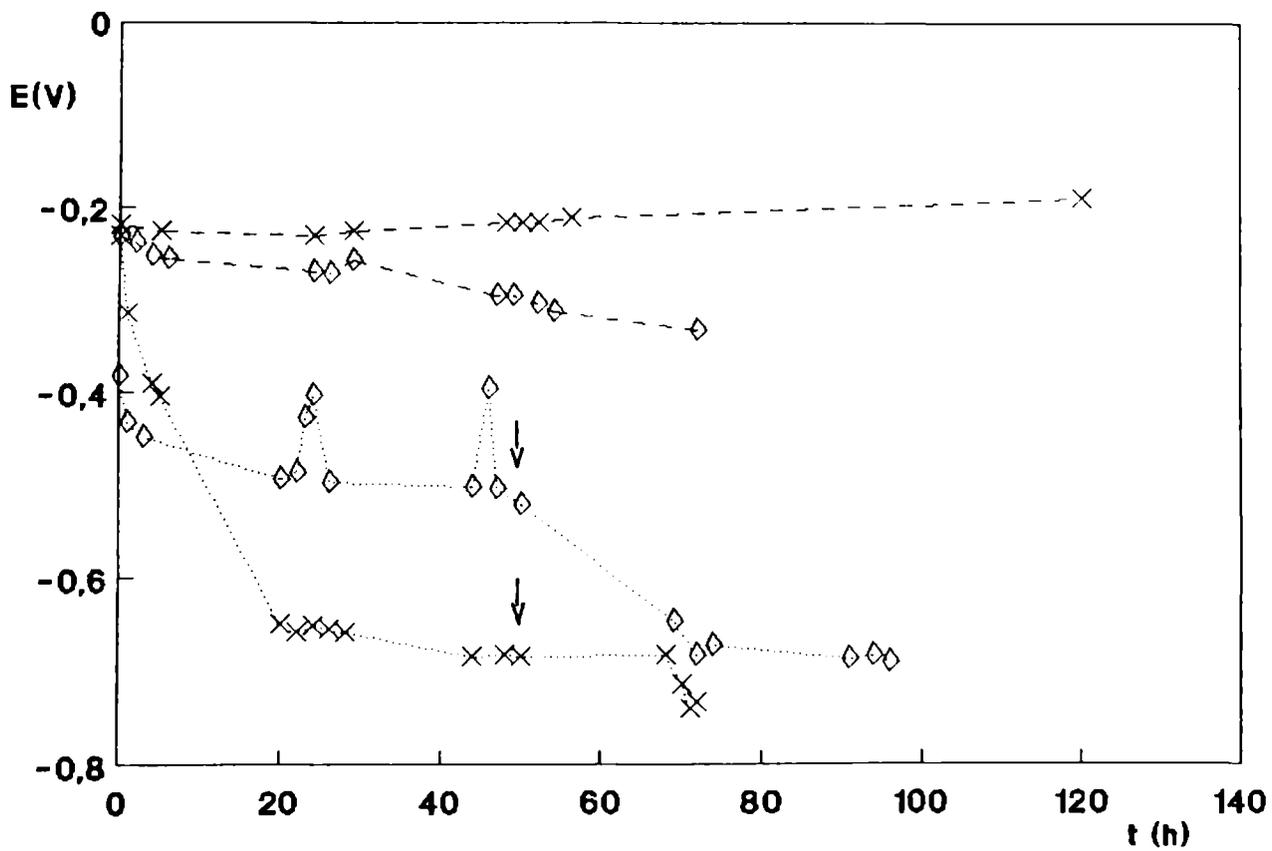


Fig. 74: Potencial a circuito abierto vs. tiempo correspondiente a la aleación cobre-níquel 70/30 sumergidas en medios estériles (- - -) e inoculados con *V. alginolyticus* (.....) agua de mar artificial (\diamond); medio C de Postgate (x x). Las flechas indican el momento en que se realizó la inoculación con BRS.

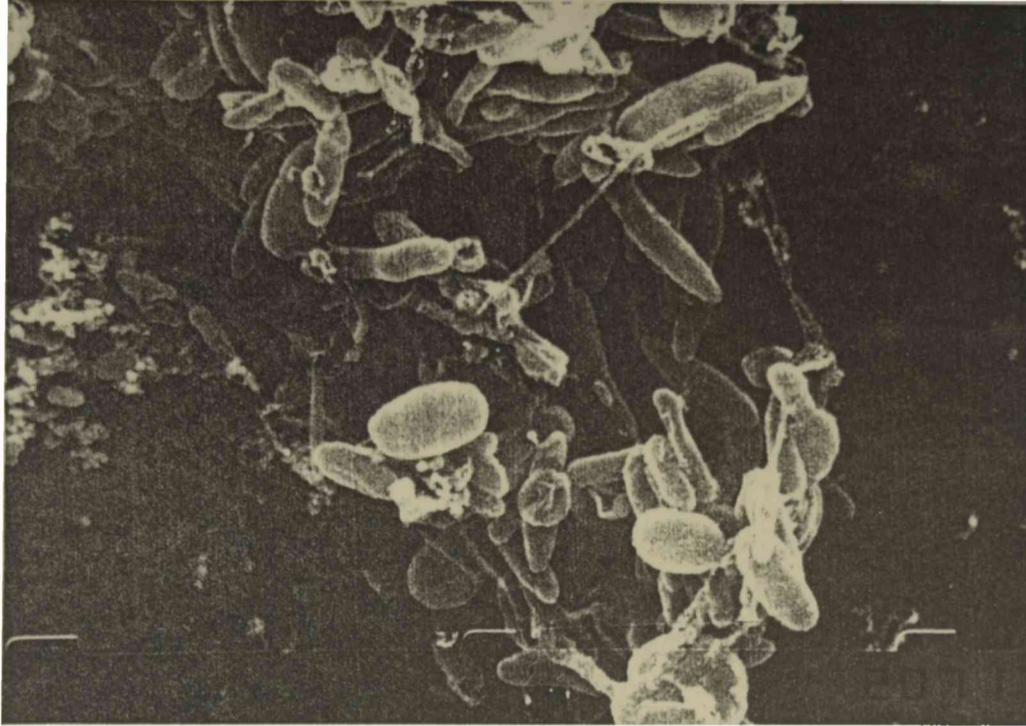


Fig. 75: Microfotografía obtenida a través del MEB correspondiente al bronce aluminio sumergido durante 4 h en un cultivo de *I. alginolyticus* (X5000).



Fig. 76: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de bronce aluminio sumergida en un cultivo de *I. alginolyticus* durante 48 h. (X5000)

composición de los medios, ya que muestras metálicas eran idénticas y estaban sumergidas en medios de cultivo con idénticos microorganismos. Sin embargo, al repetir el registro con los medios estériles, los valores del PCA en el agua de mar sintética fueron, por el contrario, inferiores a los obtenidos en el medio C de Postgate (NaCl 30 g/l) (Fig. 74).

La observación de las muestras por microscopía de barrido después de dos días de inmersión mostró grietas y pequeños hoyuelos conteniendo material biológico (Figs. 75 y 76).

Cultivos puros y mixtos de *D. vulgaris*.

A fin de estudiar la influencia del metabolismo bacteriano en el valor del PCA, especialmente la producción de compuestos de azufre detectados en la película pasivante de las muestras expuestas *in situ*, se realizaron experiencias utilizando mezclas de un microorganismo aeróbico facultativo (*V. alginolyticus*) y una BRS (*D. vulgaris*).

Cuando los cultivos puros de *V. alginolyticus* fueron inoculados con *D. vulgaris* los valores del PCA decrecieron hasta -0,72 V en el medio C de Postgate (NaCl 30 g/l) y hasta -0,67 V en el agua de mar sintética. La producción de sulfuro por parte de las BRS hizo disminuir aún más el valor del PCA (Fig. 74).

La observación microscópica de las muestras de cobre-níquel a través del MEB reveló la presencia de ataque por rendijas e intergranular debajo de los depósitos biológicos (Figs. 77 y 78). Cuando se analizó la composición de las películas superficiales a través del EDXA se encontró una significativa señal de azufre por debajo y alrededor de las colonias microbianas. Además la relación cobre/níquel muestra que mientras alrededor de las colonias el porcentaje de ambos metales es similar al de la aleación base, por debajo de las colonias el nivel del níquel es muy bajo (Fig. 79, a y b). Al removerse las películas superficiales mediante un pulido muy cuidadoso pudieron distinguirse pequeñas picaduras. En el interior de las mismas se encontraron altas señales de azufre (Fig. 80, a y b)

Si se comparan las muestras obtenidas luego sumergirlas en agua de mar poluida (contaminada con sulfuros), con las sumergidas en agua de mar sintética con adición de Na₂S y aquellas inmersas en cultivos de BSR pueden notarse ciertos cambios en la estructura de las películas superficiales comunes a todas ellas (ampollas, estructura de capas similar) (Figs. 55, 67 y 81).

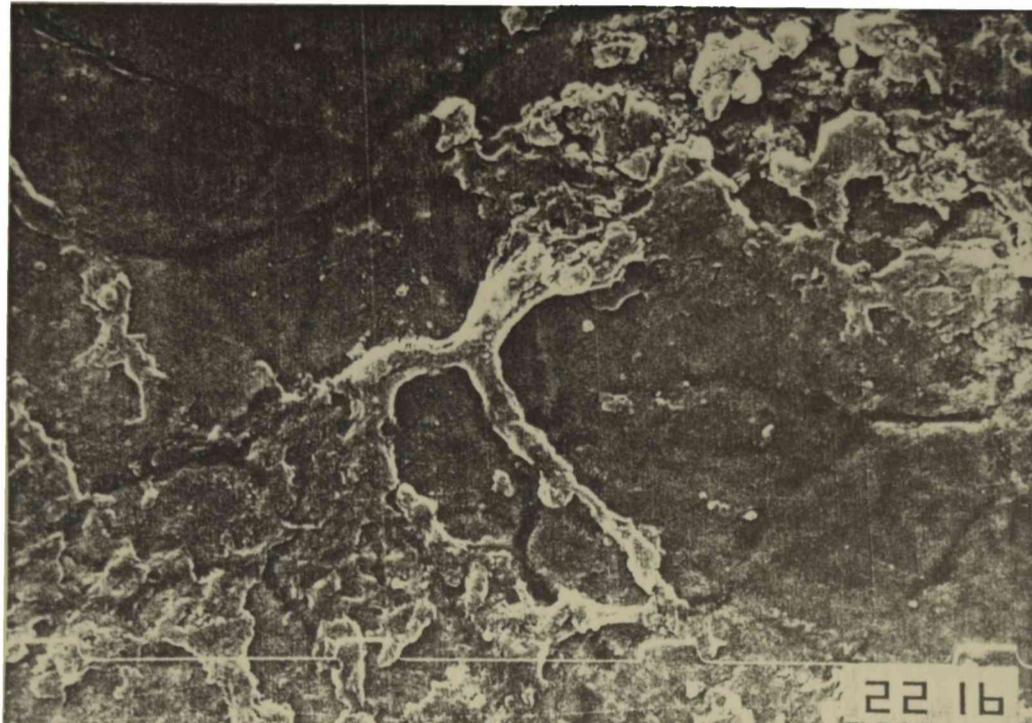


Fig. 77: Microscopía obtenida a través del MEB de una muestra de la aleación cobre-níquel 70/30 sumergida en un cultivo de BSR durante 10 días. (X3500).

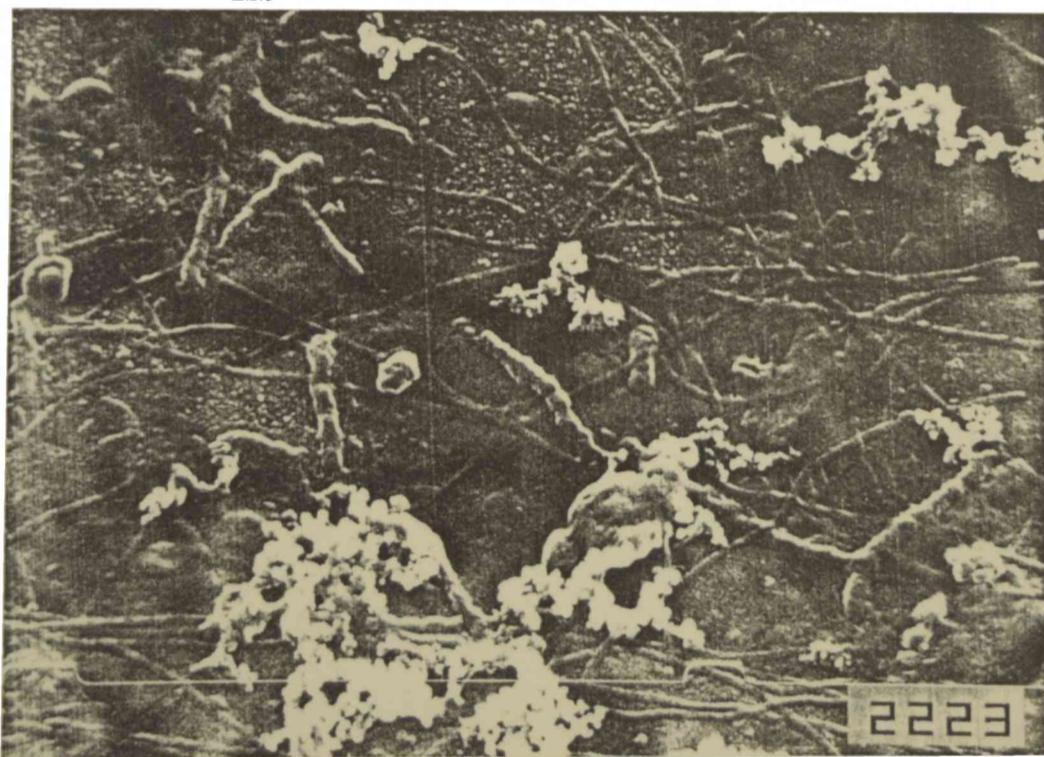


Fig. 78: Microscopía obtenida a través del MEB de una muestra de bronce aluminio sumergida durante 20 días en un cultivo de BSR. (X7500).

EDXA alrededor de las colonias

Elementos (%)

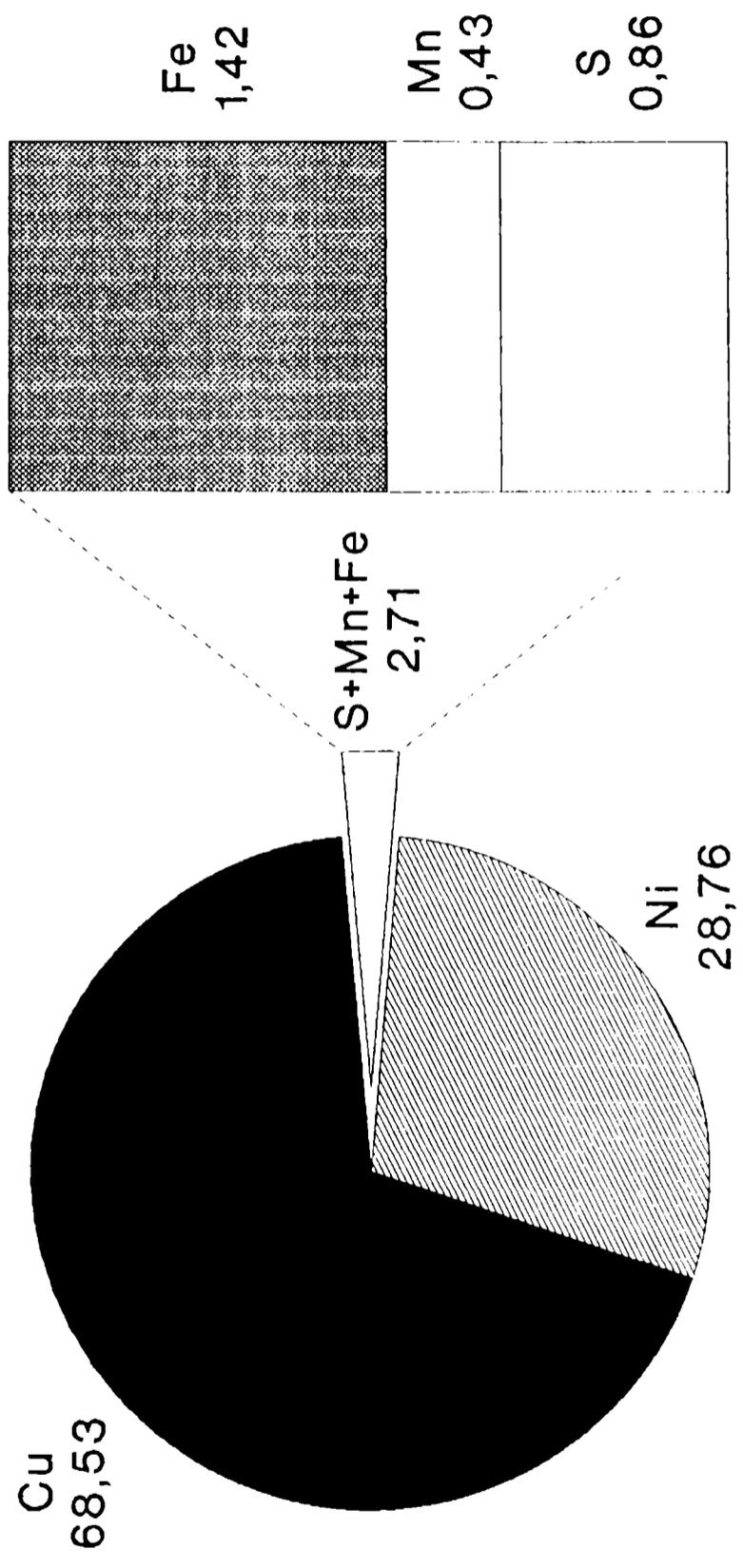


Fig 79 a

Analisis EDXA debajo de las colonias

Elementos (%)

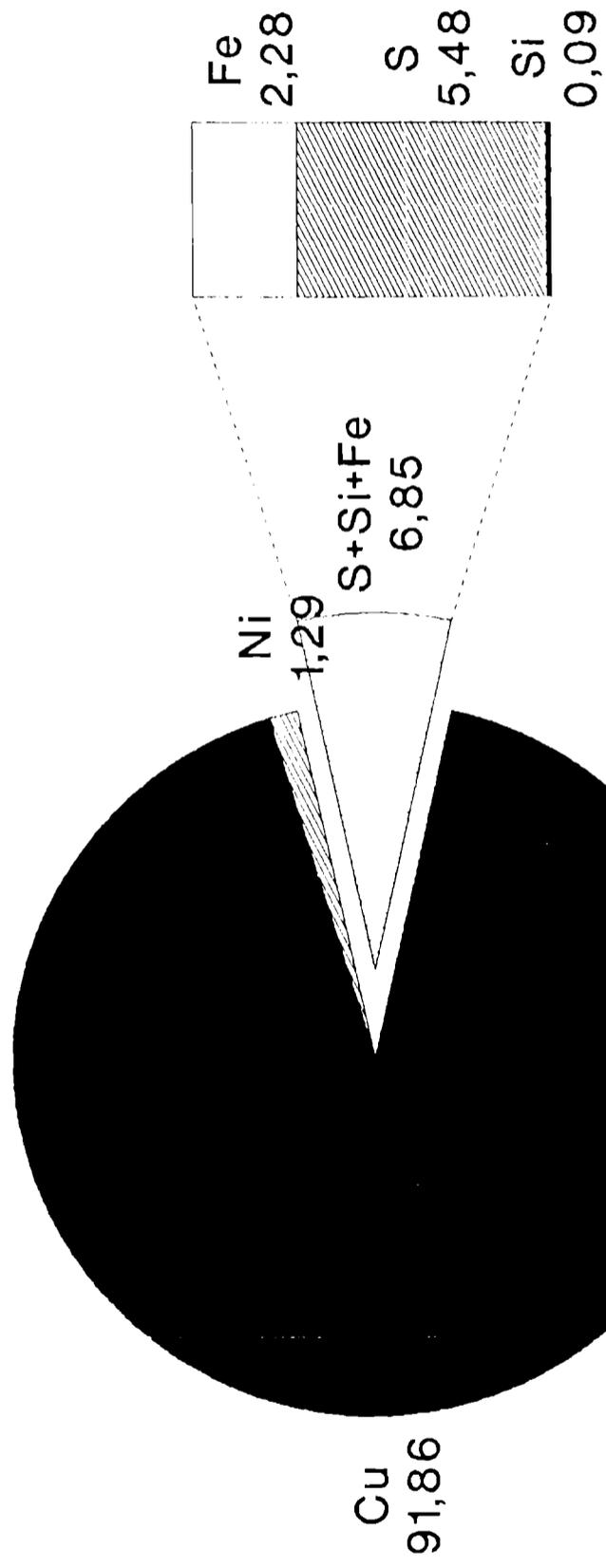


Fig 79b

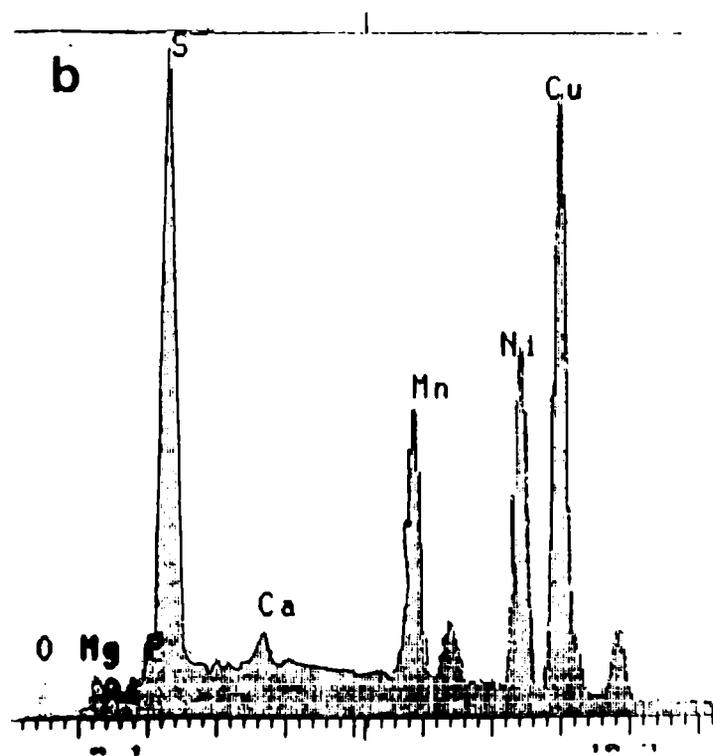
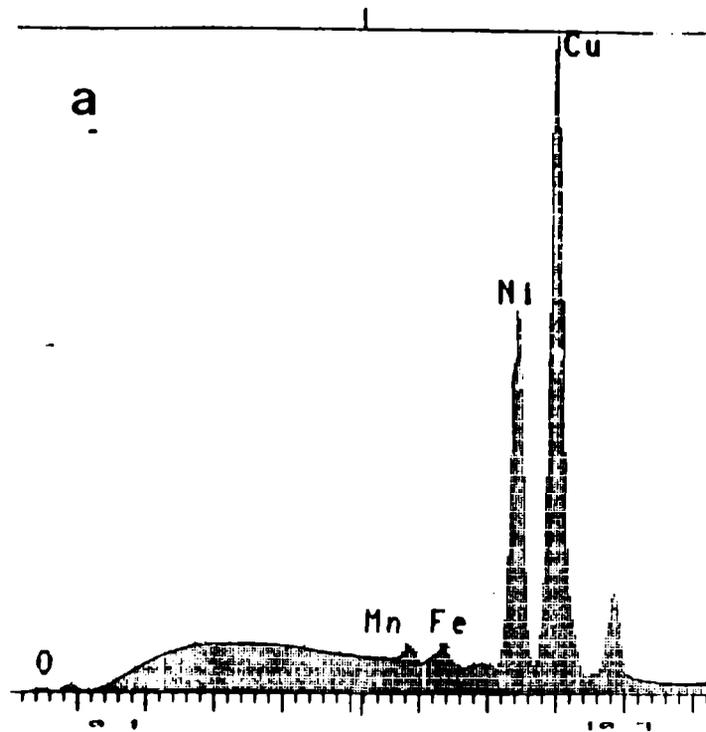


Fig. 80: Análisis EDXA correspondiente a una muestra de la aleación cobre-níquel 70/30, a) antes de la inmersión en el medio de cultivo.; b) después de la inmersión en un cultivo de *D. vulgaris* durante 20 días.

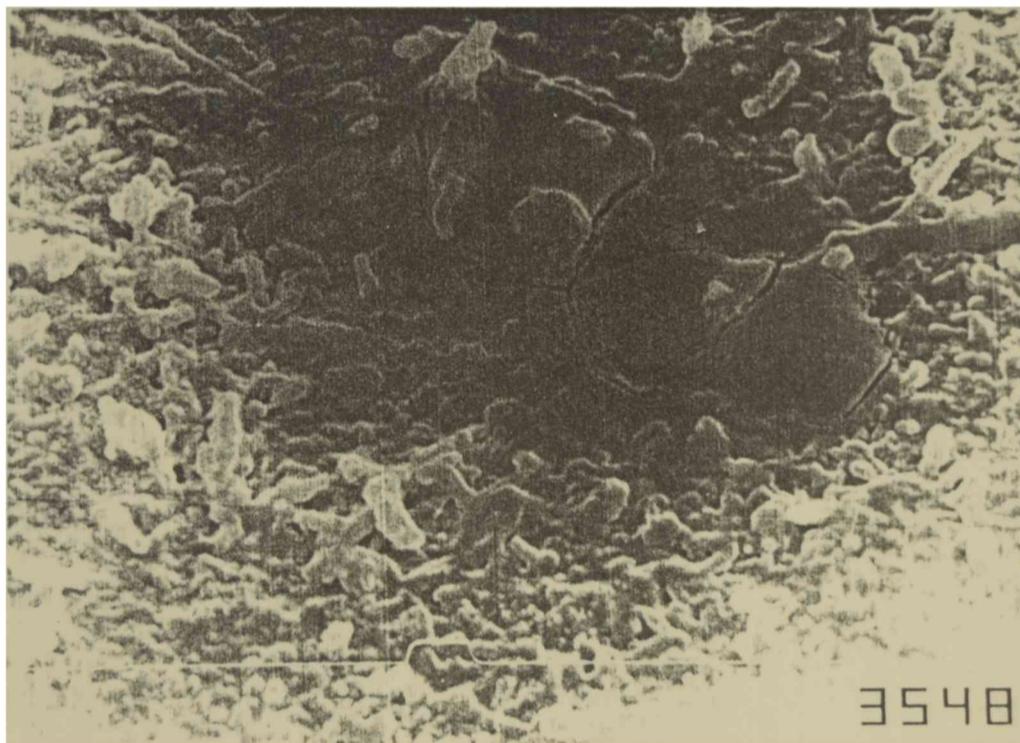


Fig. 81: Microscopia obtenida a través del MEI3 correspondiente a una muestra de la aleación cobre-níquel 70/30 sumergida durante 48 h en un cultivo de BRS (X5000).

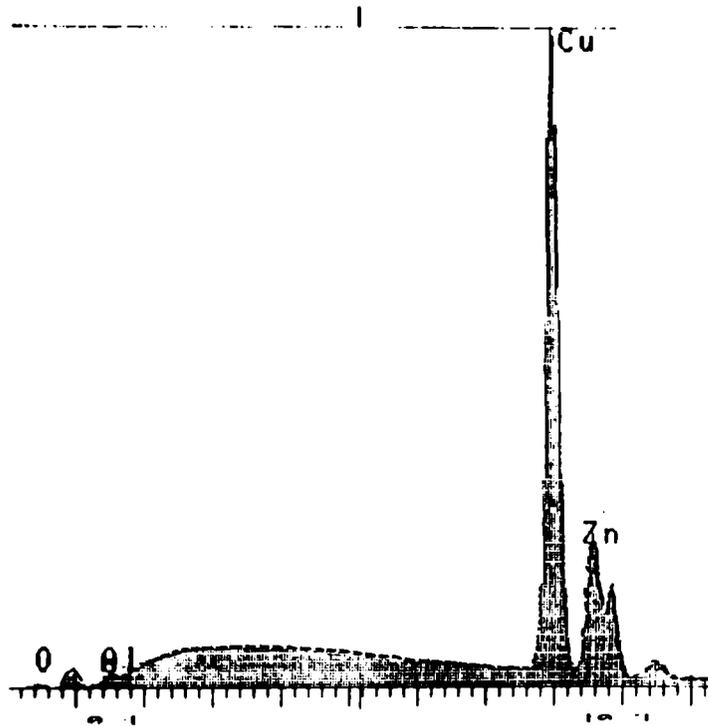


Fig. 82 a

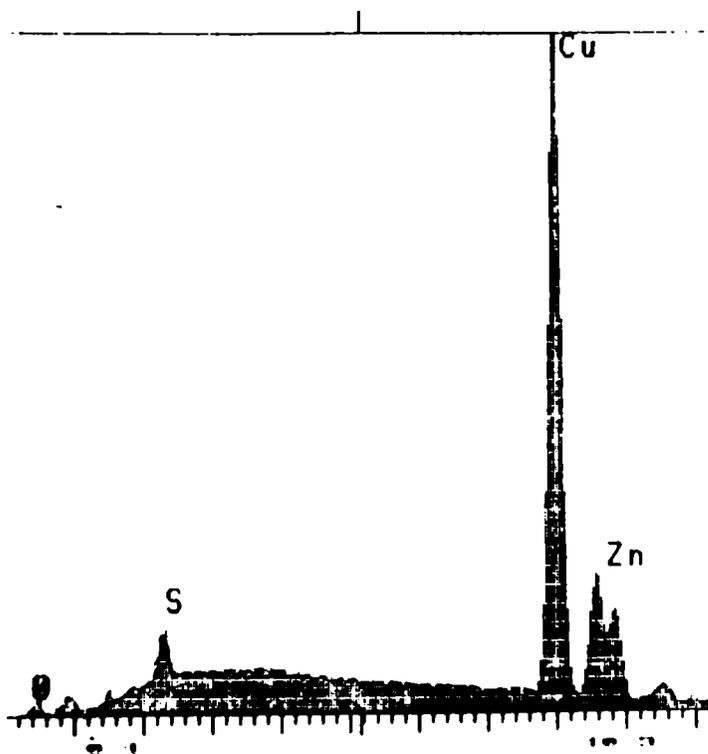


Fig. 82 b

Fig. 82: Análisis EDXA correspondiente a una muestra de bronce aluminio : a) antes de su inmersión en el medio de cultivo; b) después de su inmersión durante 6 días en un medio de cultivo mixto de *V. alginolyticus* y *D. vulgaris*.

Cuando las muestras de bronce aluminio sumergidas en cultivos mixtos fueron observadas a través de MEB, después de 6 días de inmersión, se encontró una película fina en la que se detectó la presencia de azufre (Fig., 82 a y b). Para inmersiones más prolongadas en cultivos de *D. Vulgaris* se observó un ataque severo de la superficie, donde se distinguieron zonas claras (C) y zonas oscuras (O) (Fig. 83). El análisis de la composición de las capas superficiales obtenida por EDXA (incluyendo análisis de C) reveló que en las regiones oscuras existía una gran disolución de cobre, ya que los porcentajes de cobre y de cinc eran similares, y aparecían señales de cloro y azufre, (Fig. 84, a y b) a diferencia del metal base. En las zonas oscuras se detectaron pequeños hoyuelos, dentro de los cuales las señales de azufre, cloro y zinc eran altas (Fig. 85).

DISCUSION

Comportamiento electroquímico del cobre-níquel 70/30 en relación al del cobre y níquel puros.

El comportamiento electroquímico del cobre-níquel 70/30 en soluciones de agua de mar desaireadas o en soluciones de NaCl muestra características comunes al comportamiento del níquel y del cobre puros. Así es que la contribución de corriente I_a (Fig. 62) se puede atribuir a la formación de $Ni(OH)_2$ por comparación con los resultados del níquel puro (Gassa et al., 1983). Confirmando dicha suposición dicho $Ni(OH)_2$ se reduce a potenciales muy catódicos (-0,88 V), muy cercano al potencial de la contribución I_c (Fig. 62).

Con respecto al comportamiento del cobre puro, se sabe que el pico agudo registrado a -0,04 V está relacionado con la formación de CuCl y que es independiente del pH (Flatt y Brook, 1971; Faita et al., 1975). En soluciones tamponadas conteniendo cloruros pueden distinguirse tres picos a -0,2 V, 0,0 V y 0,1 V, que han sido atribuidos a la formación de Cu_2O , CuCl y CuO respectivamente (Brossard, 1984; Chialvo et al, 1985). Consecuentemente, para el cobre-níquel 70/30 en el rango de potenciales entre -0,2 y 0,0 V, las reacciones de corrosión conducirían a la formación de Cu_2O y CuCl. Se han encontrado especies derivadas de Cu^{1+} y Cu^{2+} tales como $CuCl_2^{1-}$, $CuCl_3^{2-}$ y $CuCl_3^{1-}$ en la solución dependiendo de la concentración de cloruros (Lee y Nobe, 1984; Faita et al, 1975). Coincidentemente, los resultados muestran que la carga correspondiente

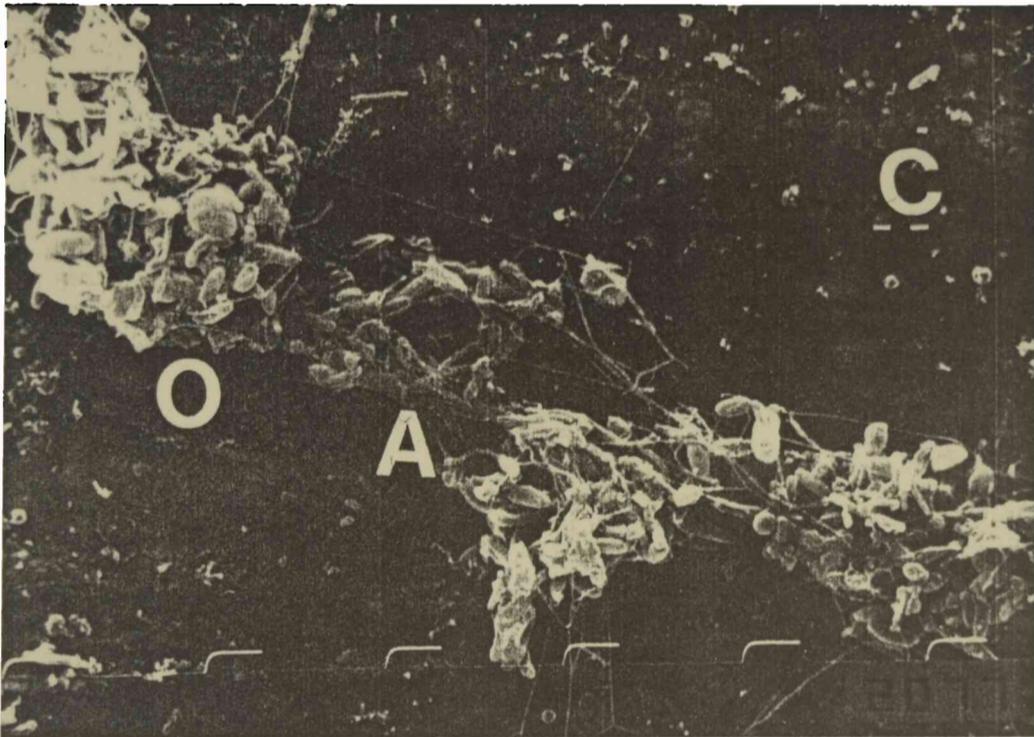


Fig. 83: Microfotografía obtenida a través del MEB correspondiente al bronce aluminio, después de 48 h de inmersión en un cultivo de *V. alginolyticus* + *D. vulgaris*. (X2000). A= agujero, C= región clara, O= región oscura (atacada).

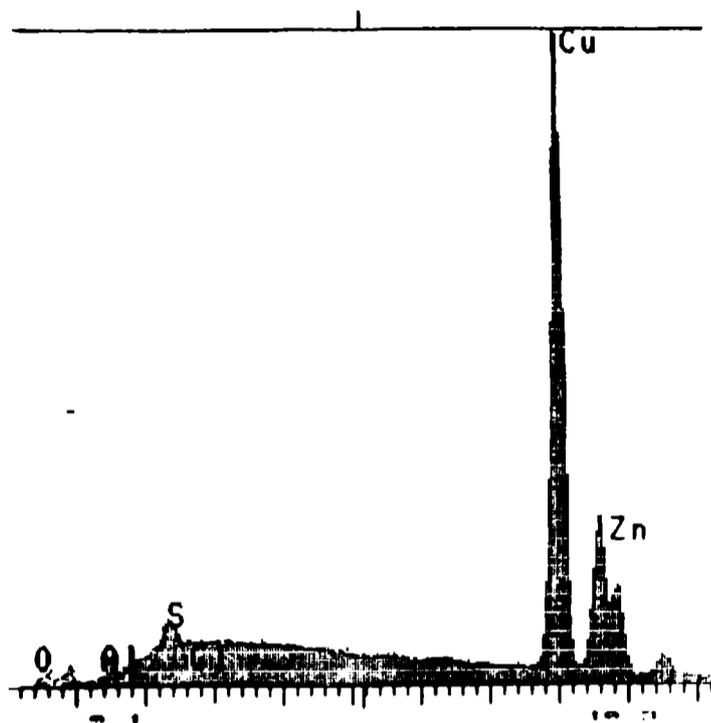


Fig. 84 a

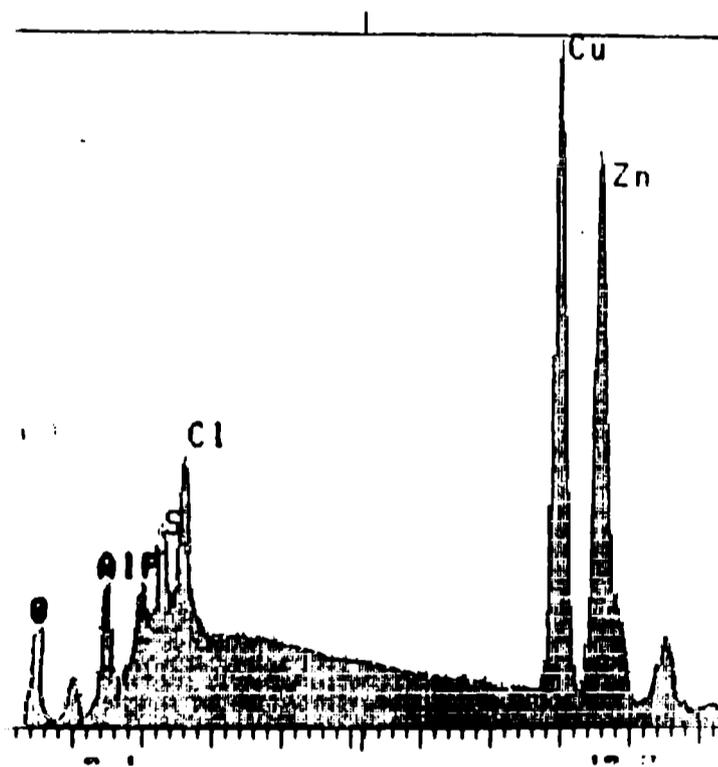


Fig. 84 b

Fig. 84: Análisis EDXA a) de la región clara de la Fig. 83 b) de la región oscura de la Fig. 83.

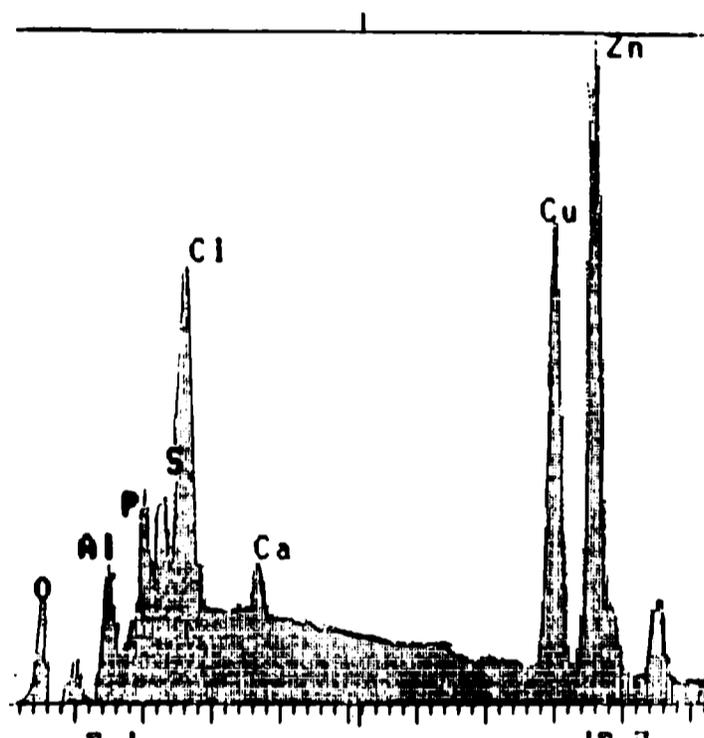


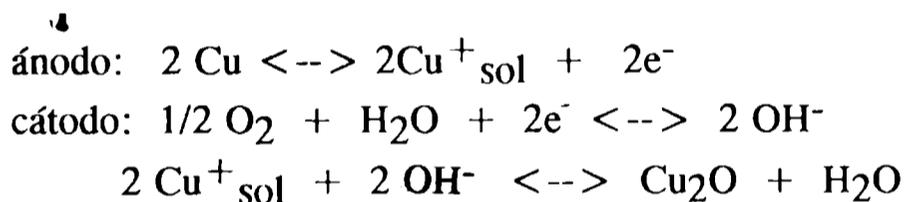
Fig. 85: Análisis EDXA realizado dentro del agujero (A) de la región oscura marcada en la Fig. 83.

al pico Ic es inferior a la del Ia (Fig. 62), por lo que debe existir un proceso de disolución de especies de cobre hacia la solución. La baja solubilidad de los cloruros de cobre e hidroxicloruros mantiene la actividad del cobre en valores bajos y facilita la disolución anódica del cobre. Este proceso de disolución aparece a potenciales más anódicos cuanto mayor es el porcentaje de níquel en la aleación (Gómez de Saravia, 1991).

Comportamiento electroquímico de la aleación cobre-níquel 70/30 en distintos medios electrolíticos.

Los espectros EDXA de las muestras luego de las primeras horas de inmersión en el agua de mar así como las observaciones a través del MEB y datos previos (Kato et al., 1980; Kato y Pickering, 1984) permitieron identificar la formación de una capa fina y adherente de óxido cuproso (Fig. 48) que lentamente da lugar a la formación de una capa porosa poco adherente de paratacamita (hidroxicloruro cúprico, $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$) que precipita sobre la primera (Fig.51).

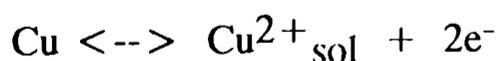
En general, podría decirse que una posible serie de reacciones que ocurren en la aleación a lo largo del tiempo puede ser la siguiente:



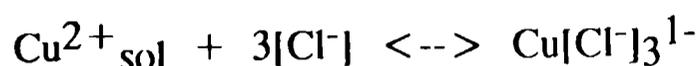
a altos potenciales el Cu_2O no es estable y el cobre puede ser removido de la película pasivante:



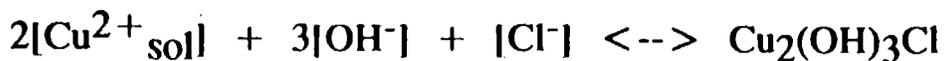
o bien formarse directamente del metal base.



En presencia de cloruros, dependiendo de la concentración de los mismos, puede complejarse desplazando la reacción previa hacia la derecha:



o bien precipitar



Los estudios electroquímicos permitieron analizar las primeras etapas de formación de dichos productos de corrosión. El abrupto decrecimiento de la corriente en la ladera derecha del pico I_a (Fig. 62) así como la forma de los transitorios de corriente que muestra un hombro en 0,1 V (Fig. 69) hace suponer la precipitación de algún compuesto sobre el electrodo que inhiba el proceso de disolución (Figuroa et al., 1987). La paratacamita ($\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$) es estable a 0,12 V y a un pH de 7,5. Por lo tanto podría ser considerado como posible compuesto que precipita en esta región de potencial. Esta hipótesis está también sustentada por los resultados electroquímicos que muestran una disminución en la altura y un desplazamiento en sentido catódico del pico I_a cuando se incrementa el pH (Fig. 63 a), ya que la precipitación de este compuesto estaría favorecida. Además, la altura del pico aumenta a mayor concentración de cloruros, debido al aumento de la disolución del cobre bajo la forma de especies cloruradas (Fig. 63 b). Dicha disolución ocurriría bajo la forma de ataque localizado, como se evidenció a través del lazo que muestra la corriente en el límite anódico de 0,2 V (mostrando un aumento del área real, Fig. 65) (Sato, 1982) y por las observaciones microscópicas de las muestras. Por otra parte, en el fondo de la grietas se encontró una disolución preferencial del cobre y la presencia de señales de cloro a través del EDXA.

Con respecto a la precipitación de paratacamita en los circuitos de agua de enfriamiento de la Central Termoeléctrica debe considerarse que los valores de potencial a circuito abierto medidos durante 40 días de inmersión *in situ* oscilaron entre -0.52 V y -0.12 V. El valor más anódico de potencial (-0,12 V) es demasiado bajo para justificar la presencia de paratacamita en la superficie de acuerdo a los diagramas potencial-pH (Syrett, 1981). Sin embargo debe considerarse que el oxígeno promueve la oxidación Cu^{+1} a Cu^{+2} , en virtud de lo cual la disolución del cobre se vería favorecida a través de la formación de especies $\text{Cu}^{+2}\text{Cl}_n^{-(n-2)}$ que conducirán luego a la precipitación de paratacamita. De acuerdo a ello los transitorios de corriente muestran mayores valores en agua de mar aireada que aquéllos realizados en ausencia de oxígeno. Coincidentemente, trabajos previos indican que las aleaciones cobre-níquel son menos susceptibles a la corrosión en ausencia de oxígeno (Eiselstein et al., 1983). Además la reacción del cobre con sulfuros y derivados también desciende el potencial de corrosión (Syrett,

1981; Eiselstein et al., 1983).

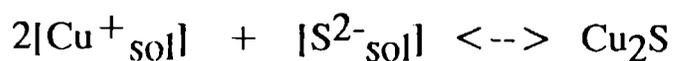
Las observaciones a través del MEB de los electrodos potenciostatizados a -0,12 V en soluciones aireadas y desaireadas mostraron la formación de pequeñas esferas de diámetro $< 1 \mu\text{m}$, dentro de una capa más compacta. Dobb (1985), ha encontrado ese tipo de productos de corrosión que identifica como Cu_2O , exclusivamente bajo condiciones de difusión restringidas, entre regiones ricas en NiO. Dichos resultados coinciden con los análisis de las partículas precipitadas en las grietas de las muestras expuestas *in situ*, en las que también existen condiciones de difusión restringida, lo mismo que en las condiciones estáticas en que se desarrollaron las experiencias potenciostáticas de laboratorio. Además el MPE puede actuar también como una barrera difusional en la interfase metal/solución que puede dar lugar a gradientes de concentración desde y hacia la superficie metálica y permitir la precipitación del Cu_2O por debajo del depósito de MPE.

Durante períodos de inmersión breves la composición de las capas de productos de corrosión en ambientes abióticos es similar a la de los ambientes naturales. Sin embargo, para períodos de inmersión superiores a una semana, en agua de mar natural poluida, la estructura superficial de las capas pasivas se complica notablemente por la presencia de la biopelícula y de los contaminantes. La simulación mediante técnicas electroquímicas de los procesos que ocurren *in situ* se torna muy dificultosa por la cantidad de variables intervinientes.

Influencia de los aniones sulfato y sulfuro.

A pesar de que existen varios estudios acerca del efecto del cloruro sobre la ruptura de la pasividad de las aleaciones cobre-níquel se encuentra relativamente poca información referida a la participación de otros iones presentes en el agua de mar tales como el sulfato. Se han reportado fallas en tubos de intercambiadores de calor expuestos a aguas con alto contenido de iones sulfato, especialmente si contenían también cloruros aún en baja concentración (Campbell, 1974). En concordancia con ello nuestros resultados muestran una gran velocidad de disolución del cobre-níquel cuando se utilizan mezclas de NaCl y Na_2SO_4 con bajos niveles de concentración de cloruros. Además se observó una pobre pasivación seguida de ataque localizado a mayores relaciones cloruro/sulfato. La presencia de iones sulfato parece modificar las características protectoras de las películas formadas sobre el cobre-níquel, favoreciendo su corrosión localizada.

La adición de Na₂S al agua de mar sintética probocó un cambio importante en el comportamiento electroquímico. Así, el potencial de corrosión se hace muy activo (-0,5 V) pues tan pronto como se sumerge la muestra en el agua se forma la capa negra porosa rica en sulfuros, pero dicha capa es muy poco protectora y adherente. Dicha película se forma al reaccionar los iones Cu⁺_{sol} con los iones sulfuros de acuerdo a:



esta disminución de la concentración de Cu⁺_{sol} resulta en un incremento de la corriente de corrosión y una disminución del PCA. Debe tenerse en cuenta que en sistemas aireados la vida media del sulfuro es de unos pocos minutos pues en presencia de oxígeno disuelto se transformará en azufre elemental, polisulfuros y oxianiones de azufre. Algunos de estos productos de oxidación (polisulfuros y azufre elemental) pueden reaccionar con el cobre de la aleación para formar también Cu₂S (Syrett, 1981).

En el espectro electroquímico obtenido en presencia de aniones cloruros y sulfuros da cuenta de un efecto sinérgico. Se produce un gran incremento de la corriente anódica ocurriendo la disolución, previa al pico I_a, a potenciales más catódicos que en presencia de cada anión individualmente. Los transitorios de corriente también dieron cuenta de una mayor disolución en presencia de sulfuros, a través de altos valores de corriente.

Interacciones biopelícula/productos de corrosión/metal

La biopelícula puede inducir el desprendimiento de las capas pasivas cuando parte del biofilm se desprende. En el laboratorio pudieron observarse desprendimientos de bacterias y colonias bacterianas que arrastraban consigo los productos de corrosión depositados por encima y por debajo de ellas. En forma similar, los protozoos que se adhirieron firmemente a las superficies de las muestras expuestas *in situ* a través del mucílago exudado radialmente por sus pedúnculos (Figs. 39 y 40) pueden producir alteraciones en la superficie metálica. Ellos constituyen una seria amenaza para la estabilidad de la película pasivante ya que por efectos del flujo las colonias pueden ser desprendidas arrastrando productos de corrosión. Estos desprendimientos darían lugar a la formación de islas de metal desnudo que se convertirían en áreas anódicas, tal cual ha sido observado en muestras sumergidas *in situ* (Fig. 54). En dichas muestras también

se observó a través de MEB que el material biológico se entremezcla con las capas pasivantes. Por otra parte las experiencias con cultivos de laboratorio han mostrado que las bacterias quedan sumergidas entre las capas de productos de corrosión (Fig. 81), hecho que sustenta la existencia de un mecanismo disolución-precipitación como el sugerido previamente. Consecuentemente las características estructurales, incluso la adherencia de las capas protectoras, se ven severamente alteradas en presencia de material biológico. Esto puede justificar, en parte, la disminución de las características protectoras de dichas capas observada *in situ*.

Los iones metálicos de los aceros inoxidables o del titanio no interaccionan de un modo notable con las biopelículas. Esto no ocurre con los metales de características tóxicas y corrosibles en el agua de mar, como el cobre y sus aleaciones. Evidentemente los iones metálicos provenientes de la disolución de los mismos interactúan fuertemente con la biopelícula. Se exige así un acondicionamiento previo de la superficie tóxica, superior al necesario en otras superficies, e implica una prolongación del período de inducción que precede al asentamiento bacteriano (Fig. 47). Aún en estas circunstancias muchos microorganismos no pueden tolerar las condiciones imperantes, y otros ven reducida su capacidad reproductiva, por efecto de las condiciones ambientales adversas. Como consecuencia de ello la diversidad de especies adheridas a las aleaciones cobre-níquel y su abundancia se ven severamente disminuidas. Sin embargo, la colonización por parte de bacterias y diatomeas con mayor tolerancia de niveles de cobre, permite el posterior asentamiento de otros microorganismos con menor tolerancia (Chamberlain y Garner, 1988).

El análisis de la composición superficial obtenido a través de EDXA reveló la marcada influencia que tiene la formación de la biopelícula sobre la composición de las capas de productos de corrosión. Pudo verificarse que la composición variaba de acuerdo a la posición de los productos de corrosión respecto de las colonias bacterianas (debajo, alrededor, lejos), especialmente aquellas de BRS. El espectro EDXA indicó que el níquel había sido removido selectivamente por debajo de la colonia. El ataque localizado observado tanto en el cobre-níquel como en el bronce aluminio junto con la presencia de señales de azufre en dichos sitios indica claramente la alteración de la microestructura superficial por parte de los metabolitos bacterianos. Los sulfuros biogénicos, concentrados en áreas limitadas de la interfase metal/solución, incrementan el efecto corrosivo de los cloruros sobre las aleaciones de cobre, facilitando la iniciación del ataque

localizado.

La activa participación de los compuestos de azufre en los procesos de ataque localizado queda evidenciado a través de los análisis superficiales en los que se observaron altas señales de azufre en el interior de los hoyuelos formados en medios contaminados con BRS. Este efecto fue probado en el laboratorio mediante experiencias electroquímicas y análisis superficiales que revelaron la formación de compuestos de azufre similares a los observados en las inmediaciones de las colonias.

Se ha probado (Eiselstein et al., 1983) que cuando las aleaciones cobre-níquel son expuestas alternativamente a agua de mar aireada y desaireada contaminadas con sulfuros se produce una aceleración de la corrosión de las mismas. También se ha sugerido que la reacción catódica se ve catalizada en presencia de sulfuros (Sanchez y Schiffrin, 1982; Kato et al., 1984), y de esta forma se acelera la corrosión en aguas poluidas. La presencia señales de azufre tanto debajo como en las cercanías de las colonias de BRS mostrada en los resultados implica que en forma simultánea se llevan a cabo sobre el electrodo reacciones aeróbicas y anaeróbicas creando sitios diferenciales donde la corrosión seguramente se acelera. Probablemente este tipo de aceleración de la corrosión en presencia del sulfuro procedente de la biopelícula sea más importante que el observado cuando los iones sulfuro provienen de la solución.

En la Fig. 86 se resumen los procesos que tendrían lugar en las interfases aleación cobre-níquel/biopelícula/agua de mar natural, luego del período de acondicionamiento. El agua de mar contiene microorganismos (bacterias planctónicas (BP); protozoos, ejemplo *Zoothamnium* sp (Z), diatomeas, etc). Dichos microorganismos pueden adherir a la superficie metálica exudando MPE y formar colonias. Al precipitar productos de corrosión sobre las bacterias adheridas (BA) éstas queden entremezcladas con las películas. Debajo de las colonias de bacterias aeróbicas (CBA) pueden ubicarse las bacterias anaeróbicas, por ejemplo las BRS. Los metabolitos de dichas bacterias pueden transformar las características de los productos de corrosión (PCT). Además, cuando las colonias de bacterias y protozoos se desprenden (CBD, ZD) pueden arrastrar a los productos de corrosión (PCD).

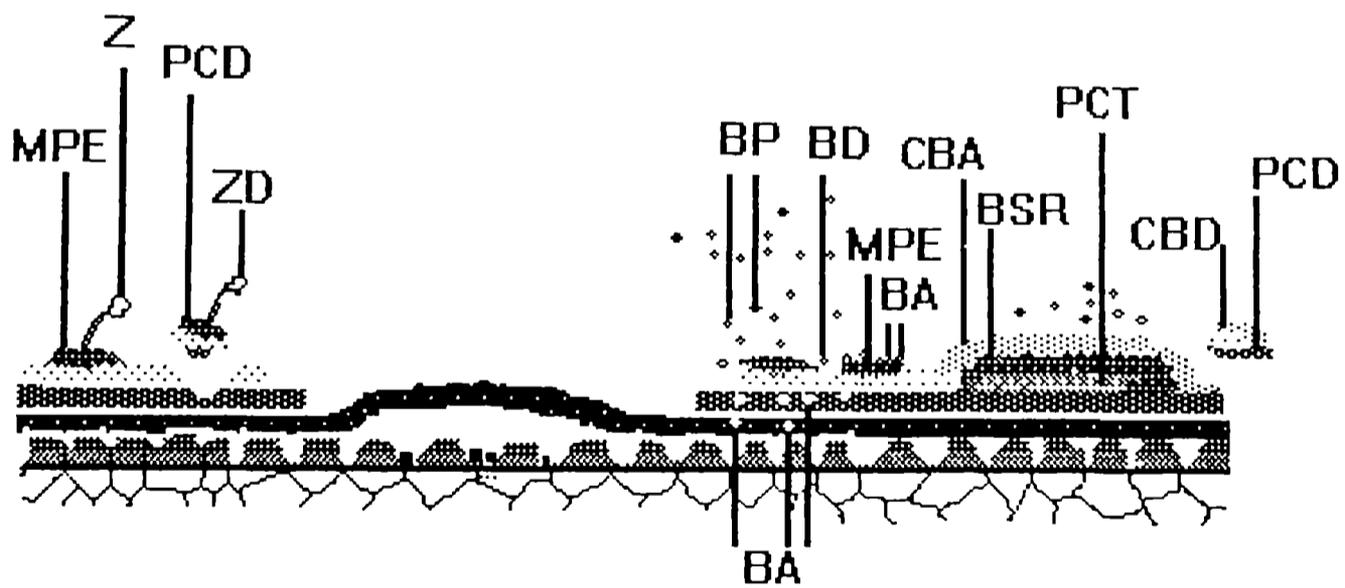


Fig. 86: Esquema representando los procesos que ocurren sobre la superficie de la aleación cobre-níquel 70/30 cuando es sumergida en agua de mar natural durante períodos mayores que 15 días. MPE= material polimérico extracelular; Z=Zoothamnium sp; ZD: Zoothamnium sp desprendido; BA= bacterias adheridas; BP= bacterias planctónicas; BD= bacterias desprendidas; CBA=colonia de bacterias aeróbicas; CBD= colonias de bacterias desprendidas; BSR= bacterias reductoras de sulfatos; PCT= productos de corrosión transformados; PCD= productos de corrosión desprendidos;

Composición de los productos de corrosión formados en ambientes naturales.

Los resultados de las experiencias electroquímicas junto con los análisis superficiales permiten inferir que la composición de las capas de productos de corrosión formados sobre la aleación cobre-níquel 70/30 depende en gran medida de las variables ambientales que incluyen entre otras: química del agua de mar, oxígeno disuelto, biofouling molecular y microbiológico. La composición de dichas capas varía, de acuerdo al tiempo de exposición. Inicialmente es una estructura de dos capas: una interna fina y adherente de color rojizo y una externa verdosa, poco adherente y porosa. La primera de ellas tiene características protectoras y está constituida principalmente por óxido cuproso. La más externa se atribuye a formas de Cu^{2+} , entre ellas $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$ (paratacamita) o $\text{CuCl}\cdot 3\text{Cu}(\text{OH})_2\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (botallaquita) entre otras. Debido a las diferencias de composición y microestructurales en los límites de grano, la película de óxidos que se forma sobre ellos no crece a la misma velocidad que en el interior de los mismos (Syrett, 1981). A causa de ello, los límites de grano se encuentran menos protegidos que su entorno y son por lo tanto un lugar preferencial para el ataque corrosivo, como lo demuestra la observación microscópica de las muestras.

La contaminación del agua con sulfuros determina cambios sustanciales en la composición de la capa externa, que se acentúan cuando el período de exposición es más prolongado. Se ha visto que inmediatamente después de la inmersión en medios con sulfuros se forma sobre la aleación cobre-níquel una oscura película de sulfuro cuproso. Si la adición de sulfuros se realiza luego de la formación de las capas de óxidos la coloración verde normal de los productos de corrosión cambia a gris o negro. Estudios realizados empleando difracción de rayos X indican que las capas externas estarían constituidas por un significativo porcentaje de Cu_2S ortorrómbico y cúbico y formas subestequiométricas de $\text{Cu}_{1,8}\text{S}$ (Syrett, 1981).

El espectro electroquímico muestra la participación simultánea de sulfuros y derivados y cloruros para formar capas mixtas. En presencia de sulfuros las capas externas presentan una mayor proporción de níquel que en la aleación base. Esto podría explicarse considerando que durante el proceso de dealado el níquel disuelto no puede ser eliminado de los poros de las capas de productos de corrosión. Posiblemente, restringido por la presencia de la película de sulfuros, precipita como NiCl_2 , en los poros de la paratacamita (Mukhopadhyay y

Baskaran, 1986).

Tanto en los ensayos de laboratorio (inorgánicos y microbiológicos) como en las experiencias *in situ* se ha notado el ampollado y descascaramiento de la superficie en presencia de iones sulfuros y derivados. Siendo la concentración de sulfuros y de oxígeno disuelto en el agua del puerto muy variables, es probable que, en ciertas condiciones, parte del Cu_2S , relativamente inestable, se transforme en Cu_2O u NiO , más estables. La transformación $\text{Cu}_2\text{O} \rightarrow \text{Cu}_2\text{S}$, por ejemplo, implica un cambio de volumen de $28,4 \text{ cm}^3$ a $23,9 \text{ cm}^3$ por mol. Esto puede crear tensiones que debilitan las uniones entre las capas y conducen al desprendimiento de las capas más externas, tal como se observó en las Figs. 54 y 56.

Debe tenerse en cuenta que en los ambientes portuarios poluidos las mareas favorecen la renovación de las aguas, con el consecutivo aumento de la concentración de oxígeno y disminución de la de sulfuro, aunque en nuestro caso, por razones constructivas dicha renovación es escasa. También los productos de desecho de la industria pesquera generan pulsos de alta concentración de sulfuros. Los sucesivos altibajos en la concentración de sulfuros y oxígeno inducirán a formar nuevas capas superficiales ricas en compuestos de azufre que lentamente se convertirán parcialmente en óxidos sobre los que se formarán nuevas capas. La estructura original de dos capas se transforma entonces en una estructura laminar, con películas fácilmente desprendibles, tal cual se ha visto en las microfotografías.

Las BRS son otra fuente de iones sulfuro. Se ha visto en los cultivos de laboratorio que pueden crecer aún en ambientes aeróbicos cuando la demanda de oxígeno es alta. Sus productos metabólicos se encuentran concentrados por debajo y en los alrededores de las colonias bacterianas. Es interesante notar que las capas formadas con azufre proveniente de la solución presentan altas concentraciones de níquel en su composición, mientras que la zona ubicada por debajo de las colonias, con alta concentraciones de azufre, muestra altos niveles de cobre. Probablemente, las particulares condiciones existentes debajo de las colonias (anaerobiosis, bajo pH) podrían favorecer al proceso eliminación de níquel tal como ha sido reportado previamente (Efird, 1970). El mayor riesgo aquí es, entonces, la creación de islas en las que la composición de los productos de corrosión varíe significativamente respecto del entorno, dando lugar a celdas de concentración de compuestos de azufre.

Influencia de la presencia de la biopelícula en el potencial a circuito abierto.

Los metales pasivos tales como el Pt, Ti y aceros inoxidable expuestos al agua de mar natural producen un ennoblecimiento del potencial de corrosión atribuible a la presencia del biofilm bacteriano (Johnsen y Bardal, 1986; Scotto et al, 1985; Mollica et al., 1988, 1991; Dexter, 1992; Chandrasekaran y Dexter, 1993). Este desplazamiento del potencial hacia valores más anódicos los hace más susceptibles al ataque localizado. El mecanismo del ennoblecimiento no ha sido aún esclarecido. Se han propuesto varios mecanismos para explicar dicho ennoblecimiento de potencial en presencia de las biopelículas, en general se piensa que existe una aceleración de la velocidad de reducción de oxígeno (Chandrasekaran y Dexter, 1993) ya sea por: 1) decrecimiento del pH, 2) catálisis por compuestos organometálicos, 3) catálisis enzimática producida por las bacterias del biofilm o 4) combinaciones de las anteriores.

Evidentemente la aparición de la biopelícula y la producción de distintos metabolitos originan los cambios sustanciales en las propiedades de la interfase (variaciones de pH, concentración de oxígeno, tensión superficial). La producción del ácido carbónico derivado de la respiración celular, sumada a la acidez aportada por los metabolitos, hacen descender el pH de la interfase. El descenso de oxígeno y el decrecimiento del pH en la interfase producen efectos contrarios sobre el PCA. El efecto de este último supera al primero y el resultado neto es un ascenso del PCA. Sin embargo se ha probado que el decrecimiento del pH en la interfase, por sí solo, no puede justificar las variaciones de potencial observadas en otros metales (Dexter, 1993; Mollica, 1992). Por este motivo se puede suponer, que la reacción de oxígeno debería estar catalizada mediante la intervención directa o indirecta de la biopelícula ya que la muerte de la biomasa produce la desaparición de la despolarización (Scotto et al., 1990).

En el caso de las aleaciones con base de cobre el ennoblecimiento "in situ" es escaso o nulo, como ha podido apreciarse en la Fig. 60, pero igualmente presentan ataque localizado. Se han detectado severos problemas de corrosión en los tubos de condensadores construidos de aleaciones cobre-níquel y bronce aluminio que usan agua de mar como refrigerante. Los resultados muestran que la biopelícula interactúa con los productos de corrosión pero cabe preguntarse si existirá una variación en la velocidad de reducción de oxígeno, tal como ha sido descrito para los metales más nobles. Las experiencias realizadas con cultivos

bacterianos (Figs. 72 y 73) mostraron que las variaciones del potencial de corrosión en presencia de la biopelícula con o sin aireación forzada son muy superiores a las observadas en los medios estériles. El potencial del medio de cultivo con aireación forzada llega a ser 0,2 V superior al del medio estéril en las mismas condiciones (Fig. 72). Por el contrario, el potencial del medio de cultivo sin aireación forzada es 0,1 V inferior al del medio estéril sin aireación y similar al del medio estéril desaireado. Si bien el ataque localizado del metal observado a través de MEB podría causar un decrecimiento del PCA, también puede ocurrir que en la interfase metal/biopelícula la concentración de oxígeno sea cercana a cero por la demanda bacteriana. Debe tenerse en cuenta que el *V. alginolyticus* es un microorganismo aeróbico facultativo por lo que puede sobrevivir en bajas concentraciones de oxígeno.

De acuerdo a los resultados de la Fig. 71 las bacterias consumen oxígeno activamente durante su fase de crecimiento exponencial y el PCA desciende abruptamente (la concentración de oxígeno en la interfase es baja). Sin embargo, en el estado estacionario, existiendo aireación forzada, el PCA vuelve a incrementarse. Por lo tanto en determinadas condiciones experimentales (alta concentración de oxígeno y agitación) también los metales con transición activo-pasivo como las aleaciones de cobre, pueden evidenciar un incremento del PCA por efecto de la presencia del biofilm. Estos resultados concuerdan con la teoría que sustenta la existencia de una despolarización de la reacción de reducción de oxígeno en presencia de la biopelícula (Schiffrin y Sánchez, 1985; Ijsseling et al., 1980; Scotto et al., 1990; Mollica, 1992; Chandrasekaran y Dexter, 1993). La baja concentración de oxígeno en la interfase o el ataque del metal pueden provocar un descenso del PCA y enmascarar dicho efecto.

Se ha podido observar también que sistemas de características similares (microorganismos, concentración de cloruros, aleaciones idénticas) pueden provocar distintas variaciones del PCA. En la Fig. 74 pudo notarse que los cambios del PCA en medios estériles de distinta composición, no guardan ninguna relación con los observados en los medios inoculados. Esto es debido a que los medios de cultivo, de acuerdo a su composición, favorecen determinados procesos metabólicos (por ejemplo, la producción de sulfuros) que pueden reflejarse en el valor del PCA.

Se ha reportado (Dexter et al., 1993), que la aceleración de la corrosión localizada por efecto del ennoblecimiento de los metales sumergidos en medios

naturales, se ve reducida en presencia de la luz. Probablemente, el consumo de dióxido de carbono por parte de los microorganismos fotosintéticos produzca un incremento del pH que inhiba el aumento del potencial. Por este motivo puede esperarse que los lugares oscuros tales como los intercambiadores de calor presenten condiciones más favorables para la corrosión que aquéllos iluminados.

VI. ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES ACEROS AL CARBONO E INOXIDABLE/AGUA DE REFRIGERACION CONTENIENDO INHIBIDORES DE CORROSION

Efecto del uso de biocidas conjuntamente con inhibidores de corrosión en el tratamiento de aguas de refrigeración

El principal objetivo de los especialistas en tratamientos de agua ha sido, y aún es en algunos casos, el control de la corrosión y de las incrustaciones de origen inorgánico. Recién en la década del 80 se han comenzado a considerar las causas del deterioro biológico de las cañerías a fin de tomar medidas tendientes a evitar sus consecuencias (Stoecker and Pope, 1986; Borenstein, 1988; Scott y Davies, 1989; Zamanzadeh et al., 1989).

Los aceros al carbono son ampliamente utilizados en la construcción de distintos tipos de estructuras, entre ellos sistemas de intercambio térmico. Sin embargo, en ambientes agresivos, cuando se requiere alta resistencia a la corrosión se recurre a los aceros inoxidable.

En los sistemas de refrigeración los metales están en contacto con aguas que pueden ser de origen diverso (natural superficial o de napas subterráneas, desmineralizada, de mar) que son, en general, ambientes favorables para el desarrollo biológico. Se ha encontrado que aún aguas de bajo contenido de cloruros (20 ppm), que no deberían ser corrosivas, en combinación con la acción microbiana pueden dar lugar al ataque corrosivo de aceros inoxidable (Stoecker y Pope, 1986).

El objetivo del estudio de este sistema es investigar la biocorrosión de dos tipos de aceros (acero inoxidable AISI 316 y acero al carbono SAE 1009) colocados en dos sistemas de recirculación de agua abiertos correspondientes a una planta de procesos químicos. A fin de evaluar el efecto de la formación de microfouling sobre el proceso de corrosión, solamente uno de los dos sistemas de enfriamiento fue tratado con hipoclorito de sodio. Ambos sistemas eran protegidos de la corrosión y del depósito de iones metálicos. Los cupones fueron ubicados en un dispositivo especialmente diseñado para ser colocado en un "rack" para cupones de corrosión que permitió obtener muestras para estudios tanto de corrosión como de biofouling.

EXPERIMENTAL

Las muestras metálicas utilizadas en este trabajo correspondieron a aceros AISI 316 y SAE 1009 cuya composición se ha detallado previamente (Tabla IVb, Materiales y Métodos). Antes de su uso los cupones de 0,5 cm² fueron pulidos con papeles de esmeril grados 320 y 600. En las Figs. 3 y 4 (Materiales y Métodos) se puede observar el dispositivo de muestreo consistente en un soporte de Teflon donde se colocan los cupones y su ubicación en el "rack" de control de la corrosión de la torre de enfriamiento. Los dos sistemas de enfriamiento (2006 y 2013) empleados en este estudio pertenecen a la misma unidad industrial y utilizan agua de reposición clarificada. Las características de los mismos se detallan en la Tabla II (Materiales y Métodos). Los dos sistemas fueron tratados contra la corrosión mediante la adición de fosfatos orgánicos (PBTC) y sales de cinc. El depósito de iones metálicos se controlaba mediante la adición de agentes dispersantes basados en formulaciones de copolímeros y terpolímeros de ácido acrílico. También se realizaban como rutina el análisis químico del agua y la determinación de bacterias planctónicas por plaqueo. Sólo la torre 2013 fue tratada con hipoclorito de sodio. A fin de poder observar el efecto de la formación de las biopelículas contra la corrosión ningún tratamiento biocida fue aplicado a la torre 2006. Para evaluar la eficiencia de los tratamientos anticorrosivos en los dos sistemas se realizó el control de la corrosión por métodos convencionales (ASTM D2688-83) de pérdida de peso.

Las muestras fueron expuestas al agua de las torres durante 5, 10 y 15 días después de los cuales se procedía al conteo de las bacterias sésiles o a la observación por MEB. El biofilm fue removido mediante ultrasonido para proceder a la enumeración de las bacterias en el laboratorio microbiológico de la empresa.

Se realizó la observación de las muestras por MEB y el análisis de los depósitos y productos de corrosión por EDXA. Para poder examinar la estructura de las biopelículas las muestras fueron fijadas con glutaraldehído y tratadas mediante el secado por punto crítico. El ataque de las muestras por corrosión fue estudiado después de remover los depósitos inorgánicos y biológicos.

Se llevaron a cabo experiencias electroquímicas potenciodinámicas barriendo el potencial a 0,02 V/min a fin de evaluar el potencial de picado. Como electrolito se utilizó la misma agua del sistema de recirculación. El análisis

químico del agua se muestra en la Tabla III (Materiales y Métodos). Se realizaron experiencias utilizando agua estéril y muestras con y sin tratamiento anticorrosivo. Dicho tratamiento era el mismo que se utilizaba en la planta química.

RESULTADOS

Los resultados de la observación a través del MEB de las biopelículas y los productos de corrosión formados sobre las muestras pueden observarse en las Figs. 87-92.

Las Figs. 87 a y b muestran las superficies de acero inoxidable después de 5 y 10 días de exposición en el sistema de enfriamiento 2006. Puede verse una colonia de bacterias bacilares sobre una superficie homogénea con escasos productos de corrosión. En la Fig. 87 se pueden distinguir hifas de hongos adheridas a la superficie del acero inoxidable. A diferencia de ellas, los cupones expuestos en la torre 2013 muestran muy pocas bacterias aisladas aún para períodos de exposición de 15 días (Fig. 88). Dichas bacterias se encuentran atrapadas entre los productos inorgánicos probablemente formados por los inhibidores de corrosión.

En el caso de muestras de acero al carbono se formaron copiosos productos de corrosión sobre las mismas. Algunos de dichos depósitos presentan la forma de hojas lenticulares o de pequeñas esferas características de la hematita (Fe_2O_3) y de la goetita ($\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) respectivamente. La Fig. 90 muestra bacterias aisladas entremezcladas con los productos de corrosión después de 5 días de inmersión en el agua de la Torre 2006. Pasados 10 y 15 días sólo una minuciosa observación de las muestras permite detectar las bacterias entremezcladas con los productos de corrosión (Figs.91). Las bacterias encontradas en los cupones expuestos de acero al carbono sumergidos en el agua del sistema 2013 fueron muy escasas en todos los casos. En la superficie de los mismos, luego de remover los depósitos, pudieron observarse pequeños hoyuelos cuadrados (Fig. 92).

En la Tabla VI se resumen los datos de los conteos de bacterias planctónicas y sésiles de muestras expuestas en las torres 2006 y 2013. Los resultados de la velocidad de pérdida de peso de los cupones realizada *in situ* se muestran en la Tabla VII.

Los ensayos electroquímicos potenciodinámicos realizados con cupones de

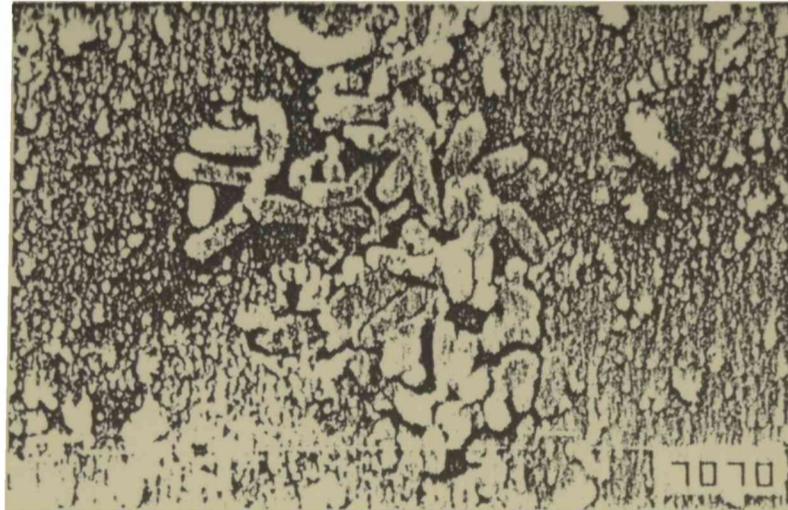


Fig. 87a: Microfotografía obtenida a través del MEB correspondiente a una muestra de acero inoxidable AISI 316 sumergida durante 5 días en el agua de refrigeración de la Torre 2006 (X7500).

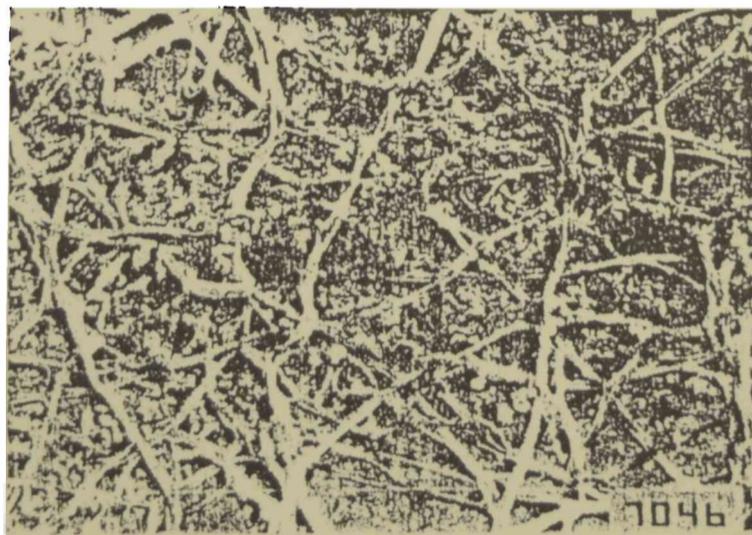


Fig. 87b: Microfotografía obtenida a través del MEB correspondiente a una muestra de acero inoxidable AISI 316 sumergida durante 10 días en el agua de refrigeración de la Torre 2006. (X750).



Fig. 88: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de acero inoxidable AISI 316 sumergida durante 15 días en el agua de refrigeración de la Torre 2013 (X3500)

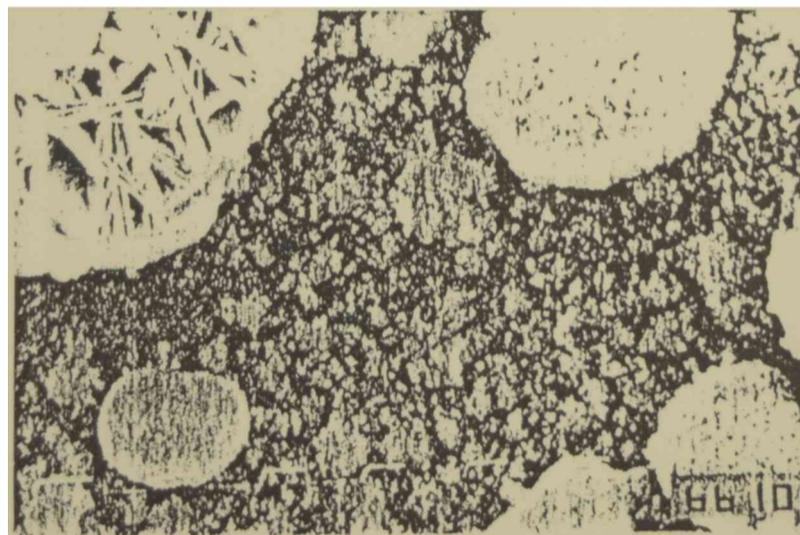


Fig. 89: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de acero al carbono SAE 1009, sumergida durante 5 días en el agua de refrigeración de la Torre 2006 (X1500).

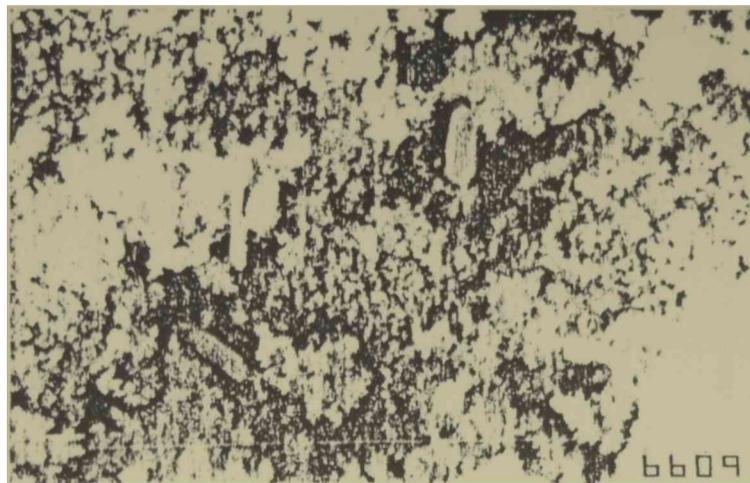


Fig. 90: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de acero al carbono SAE 1009, sumergida durante 5 días en el agua de refrigeración de la Torre 2006 (X10000).

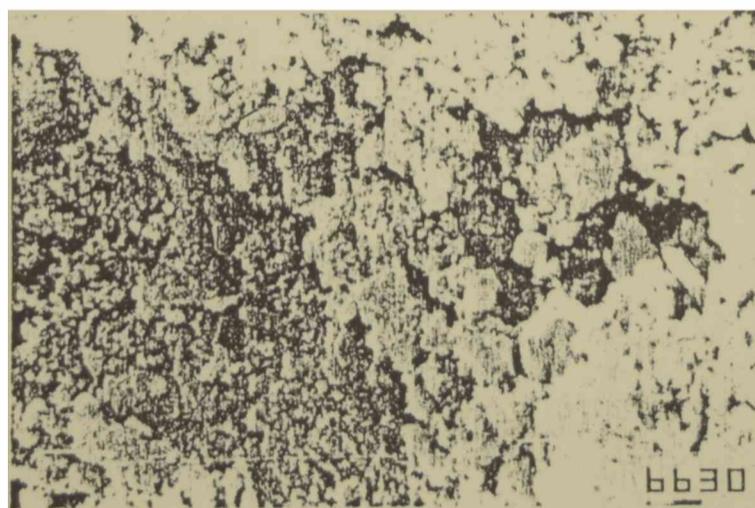


Fig. 91: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de acero al carbono sumergida durante 10 días en el agua de refrigeración de la Torre 2006. (X7500)

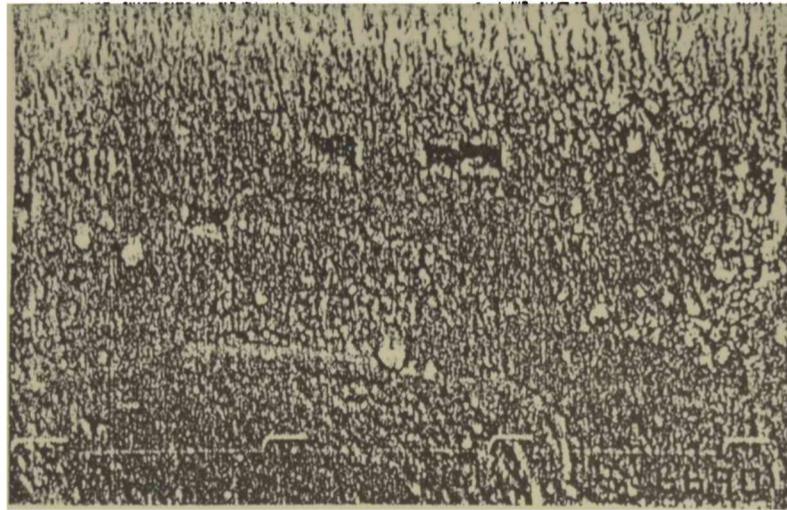


Fig. 92: Microfotografía obtenida a través del MEB correspondiente a una muestra de acero inoxidable AISI 316 sumergida durante 10 días en el agua de refrigeración de la Torre 2013. Los depósitos fueron removidos a través de limpieza mecánica.(X3500).



Fig. 93: Microfotografía obtenida a través del MEB de una muestra de acero inoxidable sumergida durante 10 días en el agua de refrigeración de la Torre 2006 (X1500).

acero al carbono, utilizando como electrolito tanto el agua de refrigeración de la Torre 2006 como la de la Torre 2013 filtradas, no mostraron diferencias significativas entre ambas. En cambio, se encontraron variaciones marcadas entre los potenciales de picado obtenidos con muestras con y sin tratamiento anticorrosivo previo (Tabla VIII). En el caso de los aceros inoxidable las curvas no reflejaron ruptura de la pasividad en esos electrolitos.

La observación de las muestras de acero inoxidable cubiertas por hifas de hongos permitió detectar la formación de un depósito blanquecino sobre las mismas (Fig. 93). En los casos en que se había producido un desprendimiento de una hifa, quedaba sobre la superficie del acero la huella de la misma, debido a la ausencia de depósitos en dichos sitios (Fig. 94). El análisis de la composición de dichos depósitos en cuatro puntos diferentes de la muestra (A, B, C, D) así como la de la superficie descubierta luego del desprendimiento de la hifa se muestran en la Tabla IX.

En los cupones de acero al carbono expuestos al agua de la torre 2006 pudo observarse la formación de ampollas (Fig 95) que al romperse mostraban la presencia de picaduras por debajo de ellas. La composición de la superficie de dichas ampollas y la de los hoyuelos que se observan cuando éstas últimas se desprenden, se resumen en la Tabla X.

DISCUSION

En un sistema de refrigeración existen tanto bacterias planctónicas como bacterias sésiles. Se ha concluido que la población planctónica es menos numerosa que la sésil y que además no es representativa de las bacterias presentes en el biofilm. Sin embargo, las muestras que rutinariamente son tomadas de cañerías corresponden a una alícuota del medio circulante. Por esta razón, las especies de células encontradas en los estudios microbiológicos de los microorganismos planctónicos no representan las especies predominantes dentro del biofilm, vinculadas frecuentemente a la corrosión.

El tratamiento biocida de un sistema puede fracasar si la dosificación se realiza basándose en la población planctónica. Las BRS, generalmente asociadas a problemas de corrosión, pueden estar presentes en el medio líquido sin que ello implique su presencia en el biofilm e inversamente, estar ausentes en el medio líquido sin que ello refleje su ausencia en la biopelícula (Costerton et al, 1988).

TABLA VI. Resultados de la enumeración e identificación de bacterias sésiles (después de 5 días de inmersión) y de bacterias planctónicas.

	TORRE 2006			TORRE 2013			UNIDADES
	Cupón 1	Cupón 2	Cupón 3	Cupón 1	Cupón 2	Cupón 3	
Acero al carbono							
Bact. aerob. totales	$1,3 \cdot 10^8$	$1,0 \cdot 10^8$	$6,4 \cdot 10^7$	$2,2 \cdot 10^5$	$1,6 \cdot 10^5$	$1,1 \cdot 10^5$	UFC/cm ²
Bacterias del hierro	$9,8 \cdot 10^6$	$9,8 \cdot 10^6$	$5,8 \cdot 10^6$	$7,6 \cdot 10^3$	$5,0 \cdot 10^3$	$5,2 \cdot 10^4$	
Pseudomonas sp.	<10	$8,0 \cdot 10^2$	$2,0 \cdot 10^3$	<1	<1	<1	
Bact. anaerob. totales	$1,6 \cdot 10^7$	$1,7 \cdot 10^7$	$7,8 \cdot 10^6$	$1,6 \cdot 10^4$	<1	$7,2 \cdot 10^3$	
BSR	<1	<1	<1	<1	<1	<1	
Hongos totales	$1,6 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^4$	$8,0 \cdot 10^3$	$1,8 \cdot 10^3$	<10	<1	
Acero inoxidable							
Bact. aerob. totales	$5,2 \cdot 10^7$	$9,6 \cdot 10^7$	$4,0 \cdot 10^7$	$3,8 \cdot 10^3$	$3,6 \cdot 10^4$	$6,8 \cdot 10^3$	UFC/cm ²
Bacterias del hierro	$2,4 \cdot 10^6$	$1,3 \cdot 10^7$	$4,4 \cdot 10^6$	$4,6 \cdot 10^3$	$2,0 \cdot 10^3$	$8,0 \cdot 10^2$	
Pseudomonas sp.	$2,0 \cdot 10^3$	$1,6 \cdot 10^3$	$1,8 \cdot 10^3$	<1	<10	<1	
Bact. anaerob. totales	$3,6 \cdot 10^6$	$3,6 \cdot 10^7$	$1,5 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^2$	<1	<10	
BSR	<1	<1	<1	<1	<1	<1	
Hongos totales	$7,6 \cdot 10^3$	$3,6 \cdot 10^2$	$4,4 \cdot 10^3$	$2,6 \cdot 10^2$	$2,0 \cdot 10^1$	$4,0 \cdot 10^1$	
Bact. aerob. planctónicas totales	$7,0 \cdot 10^3$	$4,0 \cdot 10^4$	$8,0 \cdot 10^5$	$7,0 \cdot 10^2$	$7,0 \cdot 10^2$	$4,0 \cdot 10^3$	UFC/ml

TABLA VII. Velocidad de corrosión (MPA) del acero al carbono

MES	TORRE 2006	TORRE 2013
MAYO	1,03	1,29
JUNIO	1,51	1,33
JULIO	2,80	1,90
AGOSTO	4,59	1,77

TABLA VIII . Potenciales de picado correspondientes al acero al carbono SAE 1009

Electrolito \ Tratamiento	Agua de la TORRE 2006	Agua de la TORRE 2013
cupón pasivado	-0,38 V	-0,36 V
cupón no pasivado	-0,58 V	-0,58 V

TABLA IX . Resultados del análisis EDXA de la película superficial del acero oxidable expuesto al agua de refrigeración

DESCRIPCION TORRE 2006. Acero inoxidable AISI 316, 10 días de exposición.					
Elemento	Composición de los depósitos que rodean a las hifas fúngicas.				Composición superficial por debajo de las hifas fúngicas.
	A	B	C	D	
Mg	0,28	2,17	0,94	-	-
Al	6,66	40,61	14,25	6,84	-
Si	5,35	1,88	29,94	7,83	0,18
K	0,25	-	8,21	0,16	-
Ca	0,92	-	-	-	-
Cr	16,34	11,47	-	-	21,13
Mn	0,99	0,65	1,91	2,70	1,63
Fe	62,09	39,00	40,05	51,16	70,58
Ni	5,31	3,83	3,97	6,90	6,47
Zn	1,81	0,38	-	1,93	-
S	-	-	-	18,16	-
Cu	-	-	-	3,88	-

TABLA X. Resultados del análisis EDXA de la película superficial del acero al carbono expuesto al agua de refrigeración

DESCRIPCION TORRE 2006. Acero al carbono SAE 1009, 15 días de exposición.				
Elemento	Película sin ampolla r	Sup. de la amp.	Debajo de la ampolla (dentro de las picaduras)	
			Zona A	Zona B
Mg	-	0,09	0,17	0,09
Al	2,86	1,81	5,51	3,94
Si	0,98	1,51	0,3	0,61
K	-	-	-	-
Ca	0,13	-	0,08	-
Cr	-	-	-	-
Mn	-	-	7,14	0,38
Fe	60,15	95,88	86,03	92,15
Ni	0,60	0,23	-	0,56
Zn	22,98	0,47	-	0,60
S	2,64	-	0,75	1,64
Cu	9,64	-	-	-

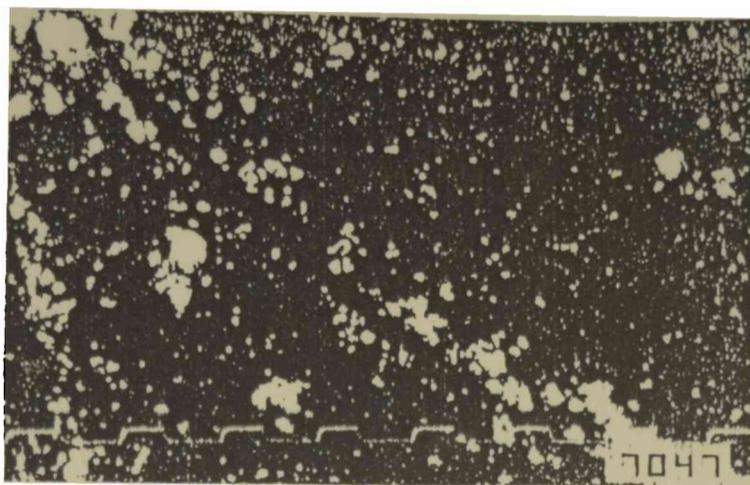


Fig. 94:Microfotografía obtenida a través del MIB correspondiente a una muestra de acero al carbono sumergida durante 10 días en el agua de refrigeración de la Torre 2006 (X1000).

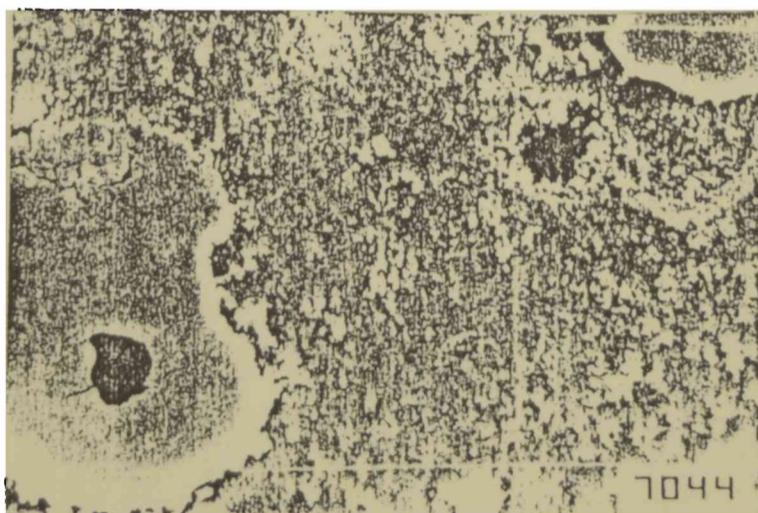


Fig. 95:Microfotografía obtenida a través del MIB correspondiente a una muestra de acero al carbono SAE 1009, expuesta durante 10 días al agua de refrigeración de la Torre 2006. Los depósitos fueron removidos mediante limpieza mecánica (X1000).

Los sistemas de muestreo de biofouling tienen como principal objetivo evaluar los depósitos biológicos formados dentro de los tubos y cañerías. Esta evaluación puede realizarse ya sea en forma directa (recuento de microorganismos, masa del depósito, espesor del depósito) o indirecta, evaluando el efecto que el depósito ejerce por ejemplo en la resistencia por fricción en las cañerías, o en la transferencia de calor en los tubos de intercambiadores (Characklis et al, 1982).

La medida directa de la cantidad de depósito se puede llevar a cabo mediante cualquier sistema que provea una superficie para la formación del mismo, bajo condiciones similares a las del sitio a evaluar. Las medidas indirectas se ocupan de medir caídas de presión, descensos del coeficiente de conductividad térmica, etc.

Los métodos convencionales de seguimiento de la corrosión tales como los cupones de corrosión que registran únicamente pérdidas de peso, proveen una información incompleta en la que no es posible discriminar las contribuciones de los distintos procesos: biofouling, corrosión abiótica, corrosión inducida por microorganismos, formación de incrustaciones inorgánicas.

La ventaja del sistema utilizado en este trabajo de investigación es la de permitir la evaluación directa y simultánea de varios parámetros relacionados a procesos de corrosión y fouling tanto inorgánicos como biológicos. Desde el punto de vista práctico es conveniente que el muestreador pueda ubicarse, como en este caso, en los "rack" de corrosión convencionales, ya incorporados al sistema de refrigeración, lo cual facilita su instalación.

La posibilidad de exponer simultáneamente varias muestras (8 por cada muestreador) permite extraerlos luego de distintos tiempos de exposición, para un seguimiento secuencial de los procesos. Por otra parte, cupones extraídos simultáneamente pueden ser utilizados para realizar distintos análisis: a) enumeración de bacterias sésiles; b) observación del biofilm a través de MEB; c) análisis de la composición superficial (EDXA, ESCA, etc.); d) evaluación microscópica del ataque del metal (después de remover los depósitos superficiales).

El agua utilizada en los dos sistemas de refrigeración analizados en este trabajo tiene características moderadamente corrosivas a causa de la presencia de cloruros y sulfatos (Tabla III). Los resultados de los barridos potenciodinámicos de potencial mostraron que no existía ruptura de la pasividad en las muestras de

acero inoxidable AISI 316. Contrariamente, los cupones de acero al carbono (SAE 1009) se mostraron susceptibles al ataque por picado en las condiciones experimentales ensayadas. Aquéllos que no tenían tratamiento anticorrosivo previo registraron potenciales de picado 0,20 V más catódicos que los que habían sido pretratados.

Cuando se realiza la comparación de las muestras de acero al carbono expuestas al agua de una y otra torre se notaron marcadas diferencias. El ataque corrosivo de las muestras expuestas en la torre 2013 fue leve, solo se observaron pequeños hoyuelos cuadrados. Las muestras que fueron sumergidas en el agua de la torre 2006, en cambio, presentaron gran cantidad de productos de corrosión, aún para breves períodos de exposición. El ataque producido debajo de dichos depósitos difería marcadamente en forma y tamaño de aquél observado en las muestras expuestas al agua de la torre 2013. Los depósitos inorgánicos formaban muchas veces ampollas, debajo de las cuales se formaban picaduras irregulares en cuya superficie la concentración de cinc era muy baja. En las regiones sin ampollar, en cambio, la protección lograda por los inhibidores de corrosión resultó efectiva.

Sobre las muestras de acero inoxidable se observó abundante adherencia fúngica. Los análisis de la composición superficial revelaron importantes diferencias en la composición de las películas y depósitos que rodeaban a las hifas. Por debajo de las hifas, la penetración de los inhibidores de corrosión fue escasa, quedando dichas áreas más desprotegidas. Dichas inhomogeneidades superficiales, con el paso del tiempo, probablemente favorezcan el inicio del ataque en dichas zonas, donde pueden formarse celdas de concentración diferencial.

El seguimiento por MEB de la evolución de la estructura de la película formada sobre las muestras de acero al carbono permitió observar cómo las bacterias se entremezclaban con los productos de corrosión desde estadios tempranos. La acumulación posterior de depósitos biológicos e inorgánicos hizo muy dificultosa la posterior identificación de las bacterias, pero su presencia fue detectada a través de conteos de células viables. Pudo observarse que las estructuras de las películas formadas y el ataque corrosivo en presencia de agua con y sin tratamiento biocida era diferente.

Considerando que la composición del agua de enfriamiento utilizada en ambos sistemas era similar al igual que los tratamientos con inhibidores de

corrosión y agentes dispersantes utilizados y que las condiciones operativas eran también semejantes, las diferencias observadas en la estructura superficial de las muestras de acero al carbono expuestas en dichos sistemas pueden atribuirse a la mayor o menor actividad biológica existente en los mismos. Los microorganismos podrían inducir el ataque ya sea de un forma directa, favoreciendo la disolución del metal, o bien indirecta, dificultando la acción de los inhibidores de corrosión.

De acuerdo a los análisis microbiológicos realizados, mostrados en la Tabla VI ,la concentración de bacterias planctónicas no llegó a valores considerados como niveles peligrosos de contaminación. Sin embargo, las bacterias sésiles y los hongos mostraron diferencias de varios órdenes de magnitud, tanto en bacterias aeróbicas como anaeróbicas, en ambos sistemas. La concentración superficial de bacterias sésiles en las muestras expuestas al agua de la torre 2006 representa alto riesgo de ataque inducido por microorganismos.

Se ha puesto en evidencia así el importante papel que ocupan los microorganismos en los procesos de corrosión. La colonización del metal por microorganismos ha cambiado el comportamiento del mismo frente a la corrosión.

VII. ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES ACERO INOXIDABLE CON PROTECCION CATODICA/AGUA DE MAR SINTETICA INOCULADA CON MICROORGANISMOS

Efecto de la protección catódica de aceros inoxidables sobre las etapas iniciales de adherencia de microorganismos

La protección catódica (PC) es un método eficaz para proteger a las estructuras y cañerías de acero inoxidable contra la corrosión localizada, especialmente por rendijas. Su aplicación en ambientes marinos es particularmente atractiva debido a la alta conductividad del agua de mar que permite obtener una distribución de corriente uniforme sobre la superficie del metal a ser protegido (Hernández et al., 1992).

La PC es llevada a cabo imprimiendo una corriente externa a un metal, de manera de oponerse al proceso de corrosión que ocurre espontáneamente. Consecuentemente, el costo de este método de protección contra la corrosión dependerá de la cantidad de corriente que se aplica a la estructura que se pretende proteger (Dexter y Lin, 1990). El valor de dicha corriente depende de numerosos factores.

Como resultado de la aplicación de PC la concentración de iones en la interfase se altera, incrementándose la concentración de iones oxhidrilo y por lo tanto aumentando el pH. El aumento del pH disminuye la solubilidad del calcio y el magnesio en la interfase favoreciendo la precipitación de las sales de calcio (Wolfson y Hartt, 1981, Hartt et al, 1984; Lin y Dexter, 1988).

La corriente requerida para polarizar la estructura depende de las características electroquímicas del metal y el tipo de depósito calcáreo formado bajo PC. Las propiedades del depósito formado en agua de mar natural están influenciadas por el proceso de adherencia microbiana (Little et al., 1988; Edyvean et al, 1992). La adsorción microbiana a su vez, depende de las características de la interfase polarizada (Dahr et al., 1982).

Teniendo en cuenta que la formación de una biopelícula sobre metales nobles eleva el PCA en dirección anódica (Johnsen y Bardal, 1986; Mollica et al., 1990) es posible que la cantidad de corriente requerida para polarizar la estructura hasta un potencial pre-seleccionado, dependa también del microfouling. El

crecimiento de BSR en sistemas protegidos catódicamente podría verse favorecido, tal como parecen sugerir resultados recientes (Guezenec, 1991).

Los resultados de las secciones previas han mostrado la influencia de la naturaleza de la superficie metálica sobre el proceso de adherencia de microorganismos sobre metales a los que no se imprimía ninguna corriente externa para protegerlos contra la corrosión. Es interesante analizar ahora el efecto que la PC aplicada sobre un metal produce sobre la película bacteriana. Debe tenerse en cuenta que la PC podría afectar alguno/s de los procesos iniciales de la formación de la biopelícula.

El objetivo del estudio de este sistema es analizar las interrelaciones existentes entre la PC aplicada a muestras de acero inoxidable, la adsorción y reproducción de bacterias y la formación de depósitos calcáreos sobre las mismas. Se investigó también la influencia de la temperatura sobre dichas interacciones. Los ensayos se realizaron utilizando tanto bacterias aeróbicas como anaeróbicas, en cultivos puros y mixtos.

RESULTADOS

La Fig. 96 muestra los resultados de los conteos de bacterias aeróbicas marinas (BAM) adheridas al acero inoxidable AISI 304L, bajo distintos niveles de PC a 20 C de temperatura. La aplicación de PC en las muestras sumergidas durante 3 y 6 h provocó un importante decrecimiento en el número de células con respecto a las muestras sin protección. Dicho decrecimiento era mayor cuanto más negativo era el potencial. Sin embargo, cuando el tiempo de inmersión se extendió a 9 h la diferencia del número de bacterias entre las muestras con y sin PC fue inferior.

En la Fig. 96 también se observa un cambio en el número de bacterias en relación al tiempo de exposición. Se puede notar que el número de bacterias aumenta al incrementarse el período de inmersión tanto en las muestras con protección como en aquellas sin protección.

Para investigar el efecto de la protección catódica sobre el desarrollo de una película en formación se sumergieron muestras durante 6 y 9 h en el cultivo. Durante las 3 primeras horas no se aplicó tratamiento alguno para luego aplicar PC durante 3 y 6 h respectivamente. Al comparar los resultados de los conteos con el

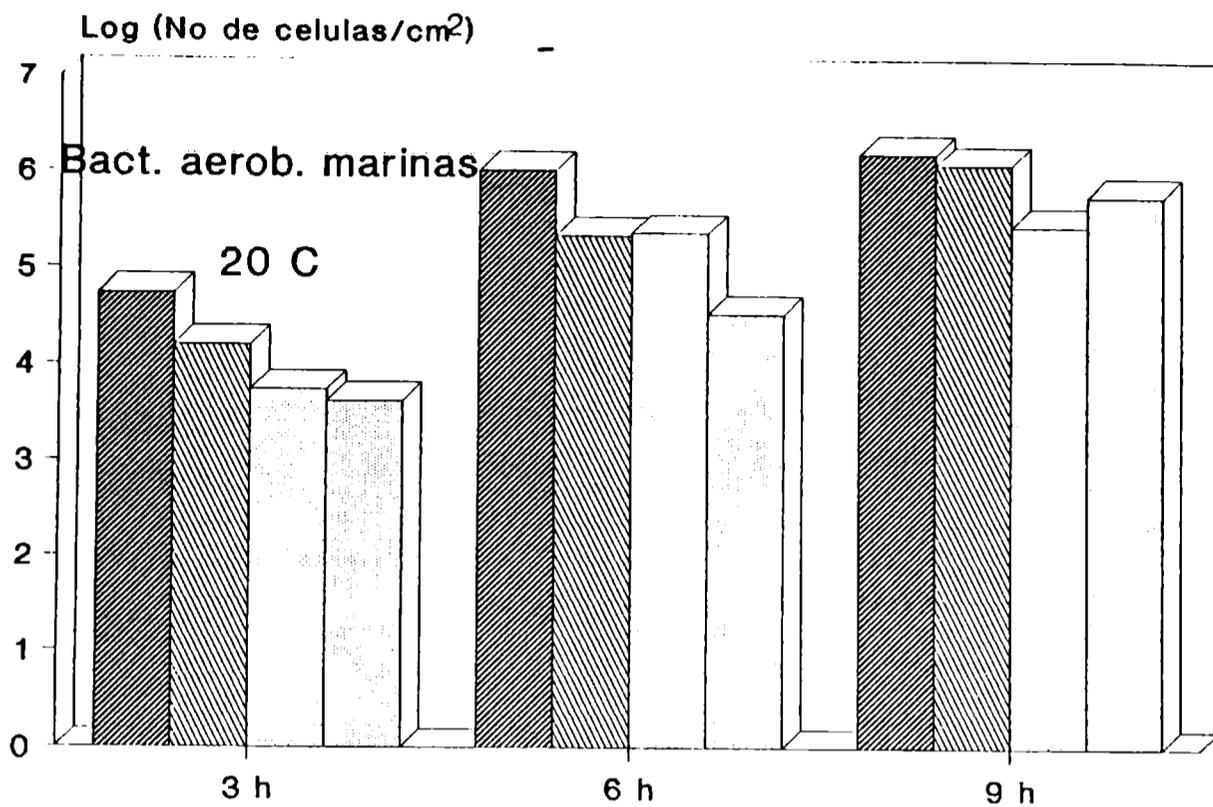


Fig. 96 Representación log (N^o de células/cm²) vs. tiempo de exposición. Las muestras de acero inoxidable AISI 304 fueron sumergidas en agua de mar artificial inoculada con bacterias aeróbicas marinas: () sin PC; () PC = -0,5 V; () PC = -0,7 V; () PC = -0,9 V. T = 20 C.

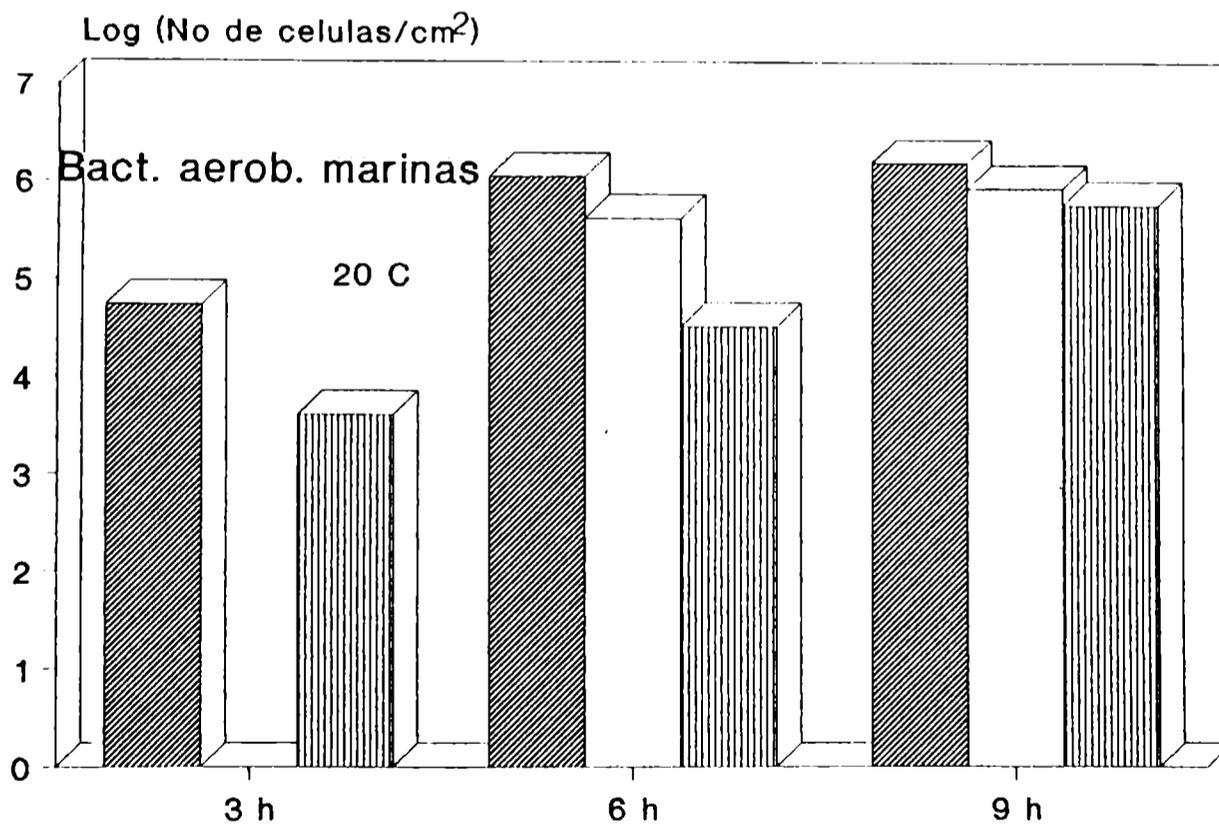


Fig. 97: Representación log (N^o de células/cm²), vs. tiempo. Las muestras de acero inoxidable AISI fueron sumergidas en agua de mar inoculada con bacterias aeróbicas marinas: () sin PC; () PC = -0,9 V aplicado inmediatamente después de la inmersión; () la muestra permaneció 3 h sin protección y posteriormente se aplicó la PC = -0,9 V. T = 20 C.

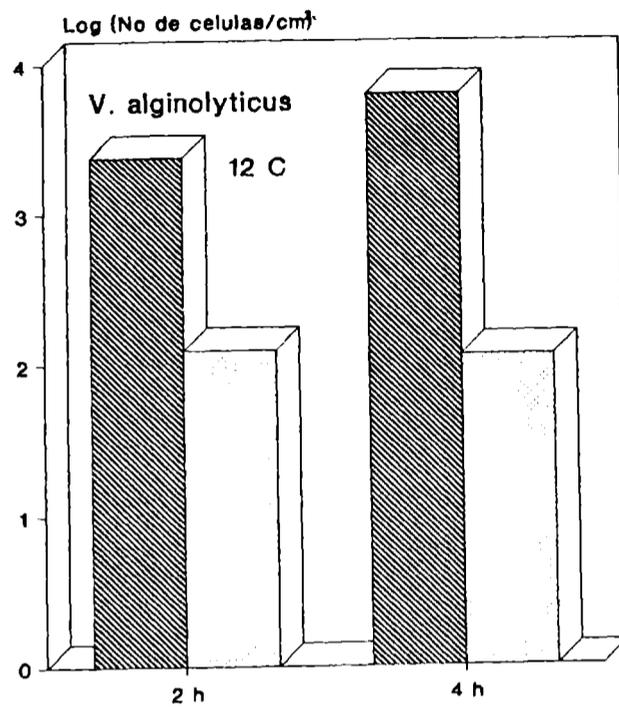


Fig. 98: Representación log (N^o de células/cm²) vs. tiempo. Las muestras de acero inoxidable AISI 304 fueron sumergidas durante 24 h en un cultivo de *V. alginolyticus*: y posteriormente permanecieron sin PC (//) o con PC=-0,7 V (.) durante 2 y 4 h. T=12 C

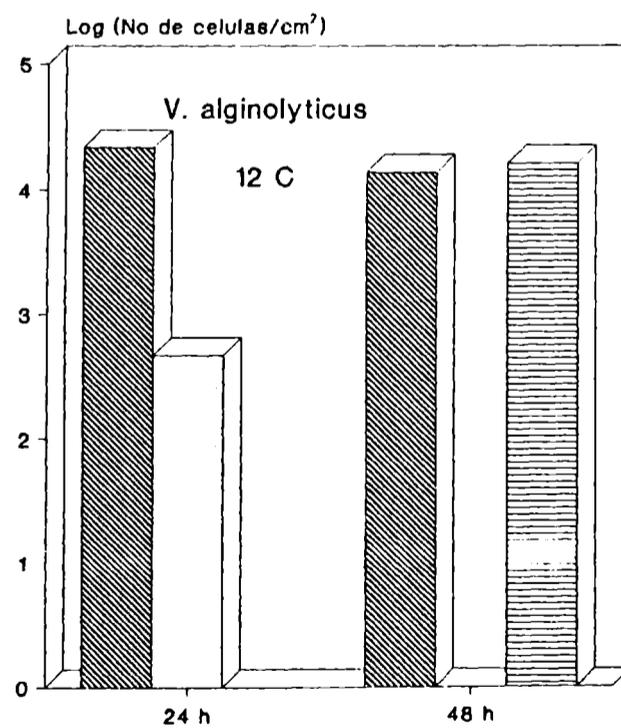


Fig. 99: Representación log (N^o de células/ cm²) vs. tiempo. Las muestras de acero inoxidable AISI 304 fueron sumergidas en un cultivo de *V. alginolyticus*: (.) con PC= -0,7V; (//) sin PC; (=) 24 h sin PC seguidos de 24 h con PC=-0,7V. T=12C

de los respectivos controles sin protección y con PC durante todo el período pudo observarse (Fig. 97) que solo existía una leve reducción en el número de bacterias (menor a un orden de magnitud respecto a las muestras sin tratamiento) en el caso de las muestras sumergidas durante 6 h (3 h sin PC + 3 h con PC). Sin embargo, el número de bacterias adheridas era significativamente superior (mayor de 1 orden de magnitud) respecto del obtenido en las muestras a las que se había aplicado PC durante todo el período de exposición. Los conteos realizados en muestras con períodos de inmersión de 9 h revelaron escasa diferencias en las distintas condiciones.

Como la temperatura modifica la velocidad de los procesos metabólicos se consideró interesante analizar el efecto de la temperatura sobre los procesos de adherencia. Los resultados de la Tabla XI muestran una reducción importante del número de células (4 órdenes de magnitud) cuando la temperatura disminuye de 20 C a 12 C. Debe aclararse que la inmersión de las muestras se realizaba inmediatamente después de la inoculación de los cultivos. Mayores números de células adheridas a 12 C, en menor tiempo, se encontraron en las muestras sumergidas en cultivos de 24 h (Fig. 98). En dichas muestras se observó una importante disminución del número de bacterias respecto a los controles al aplicarse PC durante 2 y 4 h. Es interesante notar que el aumento del período de inmersión de 2 h a 4 h no ocasionó un aumento en el número de células adheridas en las muestras con PC mientras que sí lo hizo en las muestras sin PC.

TABLA XI

Efecto de la protección catódica sobre la adherencia del *V. alginolyticus* sobre muestras de acero AISI 304L sumergidas durante 18 h en agua de mar a diferentes temperaturas

Protección	12 C	20 C
sin PC	$1,1 \times 10^4$ células/cm ²	$1,4 \times 10^8$ células/cm ²
con PC (-0,7 V)	$7,3 \times 10^2$ células/cm ²	$3,0 \times 10^7$ células/cm ²

Experiencias realizadas a 12 C durante períodos de inmersión más prolongados (24 y 48 h) muestran que el número de células adheridas se

incrementa hasta llegar a c.a. 10^4 células/cm² después de 24 h, permaneciendo relativamente constantes o descendiendo levemente después de dicho período (Fig. 99). Cuando los cupones fueron protegidos inmediatamente después de la inmersión la reducción del número de células fue nuevamente significativa. Por el contrario, cuando las muestras permanecieron sumergidas durante 48 h pero, sin PC durante las primeras 24 h y con PC durante las siguientes, no se notó ninguna modificación en el número de células. Esto parece sugerir que cuando se llega al estado estacionario de crecimiento del biofilm el efecto de la PC no es importante.

A fin de analizar la influencia de la PC en los procesos de adsorción y reproducción se realizaron experiencias sumergiendo en medios estériles cupones con biopelículas previamente formadas. De esta forma se evitaba el proceso de adsorción. El número de células adheridas en los cupones sin PC se incrementó ligeramente (Tabla XII). Podría pensarse por lo tanto que la reproducción es ligeramente superior a la desorción en esas condiciones. Al aplicarse PC, en cambio, el número de bacterias adheridas disminuyó notablemente con respecto al valor inicial. Esto sugiere que, bajo PC, la desorción de bacterias es superior a la reproducción de las mismas en dicho período, a esa temperatura (12 C).

Con el objeto de analizar la influencia de la formación de la biopelícula en la corriente aplicada durante la protección catódica se registraron transitorios de corriente en muestras sumergidas en medios estériles e inoculados con microorganismos. Las curvas corriente/tiempo registradas a -0,7 V, muestran formas disímiles para cada caso (Fig. 100).

TABLA XII

Efecto de la protección catódica sobre la reproducción de células adheridas sobre muestras de acero AISI 304L. Temperatura = 12 C

Protección	Nº células/cm ²
2 h sin PC (medio inoculado)	$1,9 \times 10^2$
4 h sin PC (medio inoculado)	$3,4 \times 10^2$
2 h sin PC (medio inoculado) + 2 h sin PC (medio estéril)	$2,1 \times 10^2$
2 h sin PC (medio inoculado) + 2 h con PC (medio estéril)	26,3

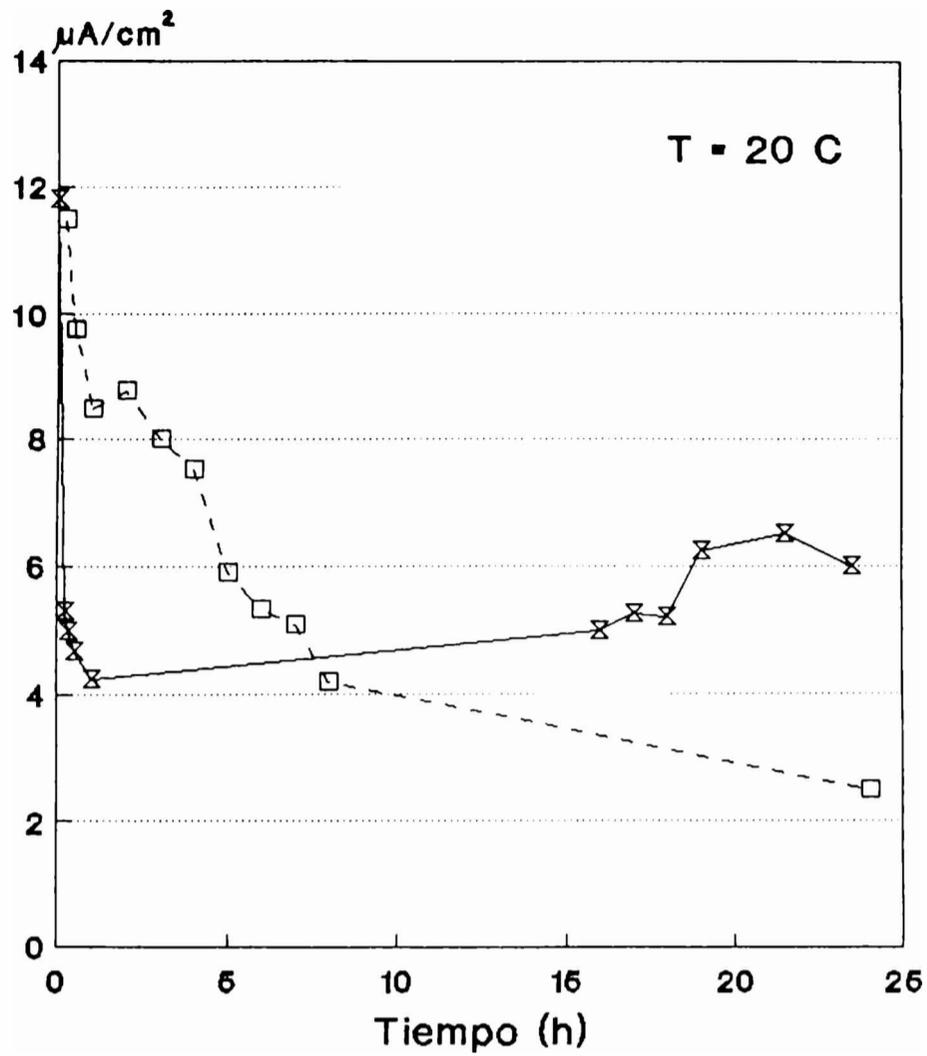


Fig. 100: Transitorios de corriente correspondientes a muestras de acero inoxidable AISI 304 con PC= -0,7 V, sumergidos en: (- - -) agua de mar estéril; (—) agua de mar inoculada con *V. alginolyticus*. T= 20 C.

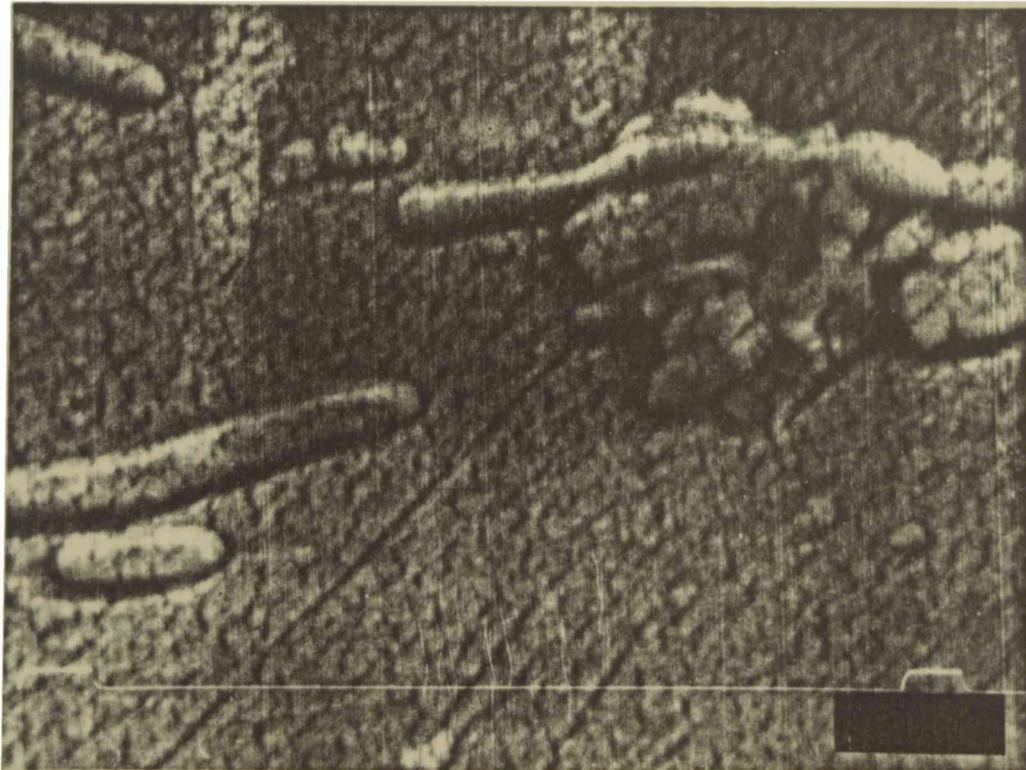


Fig. 101: Microfotografía obtenida a través del MEB correspondiente a una muestra de acero inoxidable AISI 304 sumergida durante 24 h en un cultivo de *V. alginolyticus* (X7500).

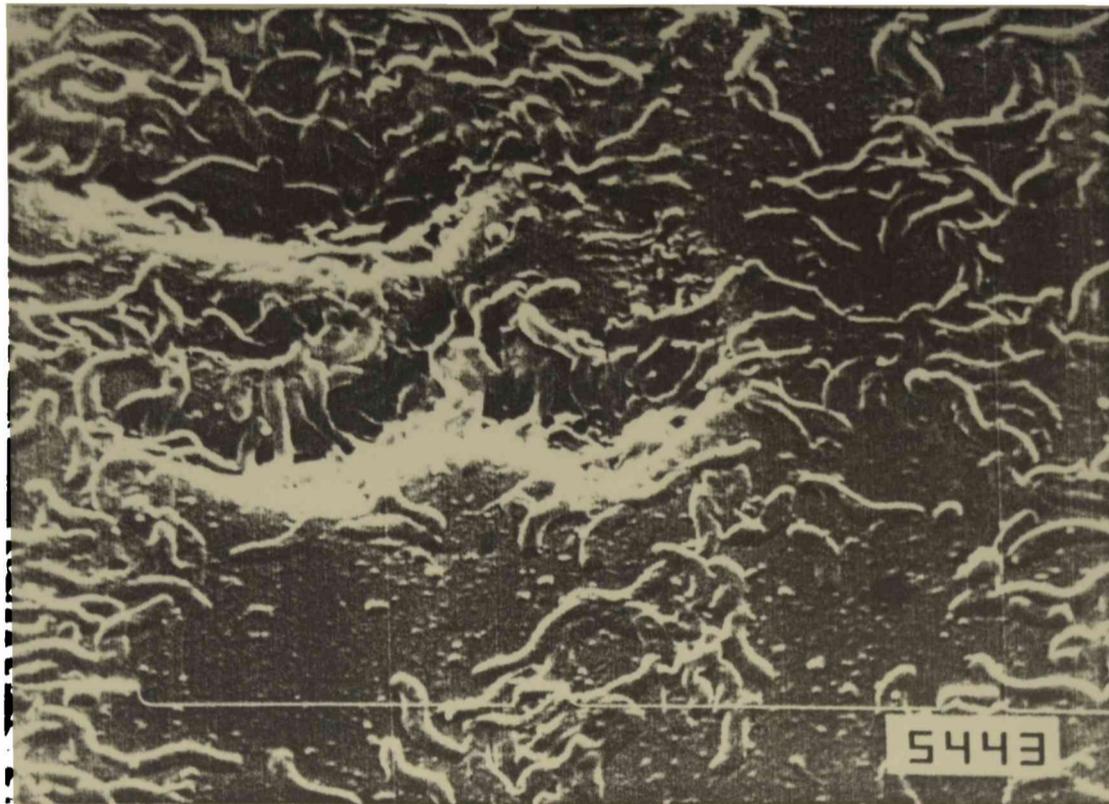


Fig. 102: Microfotografía obtenida a través del MEB correspondiente a una muestra de acero inoxidable AISI 304 L sumergida en un cultivo de BRS durante 7 días, sin PC (X5000).

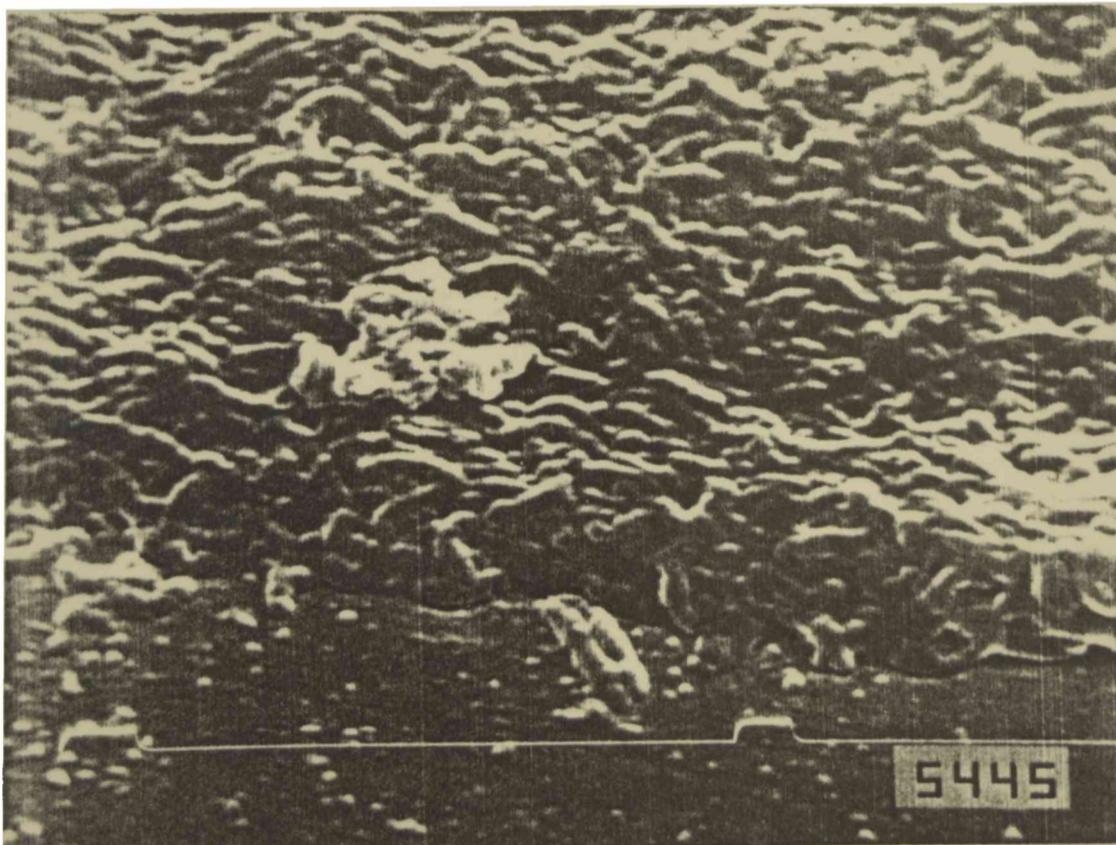


Fig. 103: Microfotografía obtenida a través del MEB correspondiente a una muestra de acero inoxidable AISI 304 L sumergida durante 15 días en un cultivo de BRS con PC=-0.7 V. (X3500)

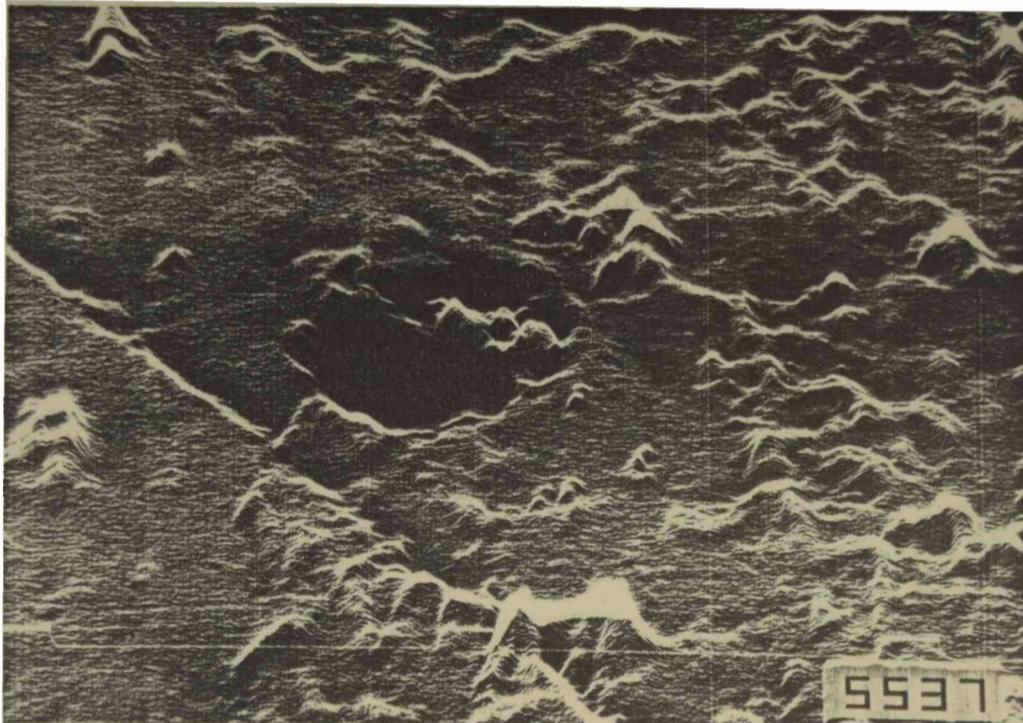


Fig. 104: Microfotografía obtenida a través del MEB (barrido horizontal mostrando el relieve superficial) correspondiente a una muestra de acero inoxidable AISI 304 L sumergida en un cultivo de BRS durante 7 días, con $PC=-0,7$ V. Los depósitos biológicos fueron removidos (X5000).

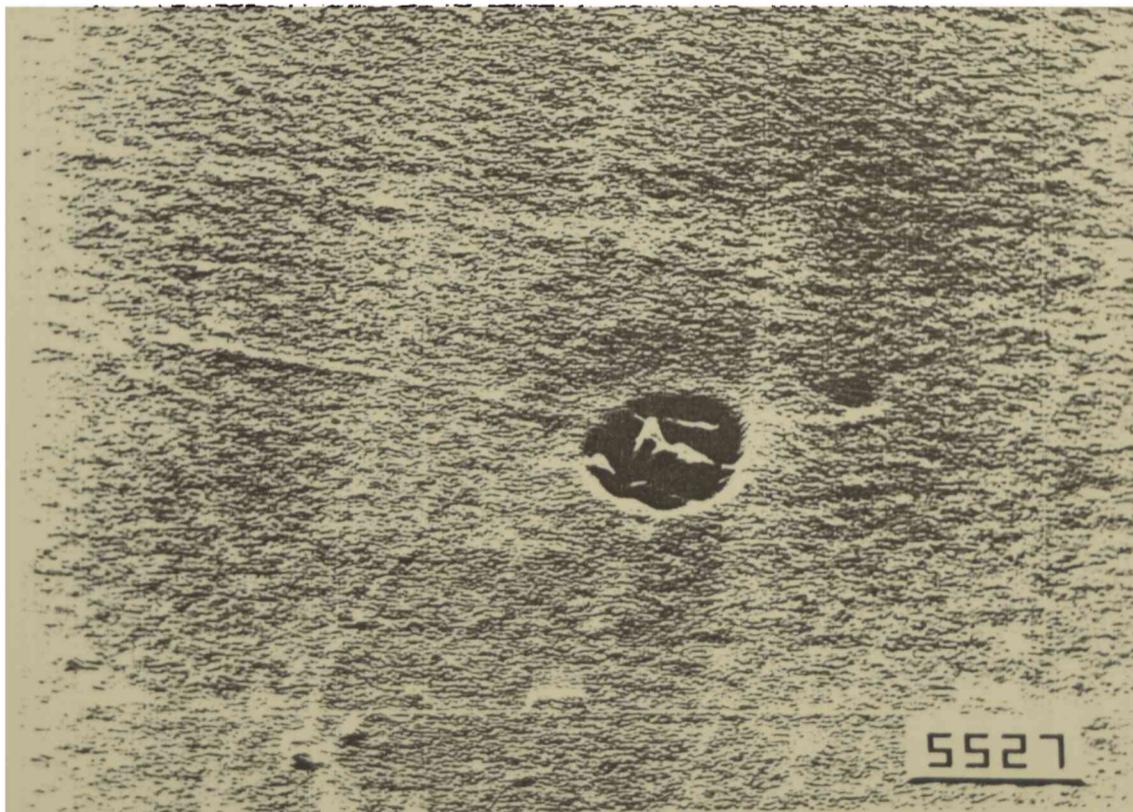


Fig. 105: Microfotografía obtenida a través del MEB (barrido horizontal mostrando el relieve) correspondiente a una muestra de acero inoxidable AISI 304 L sumergida durante 15 días en un cultivo de BRS, sin PC. Los depósitos biológicos fueron removidos (X5000).

Las observaciones microscópicas muestran que las bacterias adheridas sobre muestras con PC están cubiertas por depósitos calcáreos (Fig. 101). Además cuando las bacterias se desprenden, se producen pequeñas cavidades que reproducen la forma de las bacterias, revelando una discontinuidad en dichos depósitos

Debido a los largos períodos de incubación de las BRS se realizaron experiencias exponiendo los cupones durante períodos de 7 días y mayores. No se observó reducción del número de células adheridas al aplicarles a las muestras PC. En ambos casos (con y sin PC) el número de células fue c.a. 10^4 células/cm² y se encontró ataque localizado. A través de MEB pudieron observarse pequeños hoyuelos frecuentemente cubiertos por bacterias (Fig. 102). Después de 15 días de inmersión el número de bacterias adheridas se incrementó. Toda la superficie de la muestra estaba cubierta por una gruesa película bacteriana (Fig. 103). Por debajo del biofilm y por encima de la superficie metálica se pudo distinguir una película inorgánica firmemente adherida al metal en la que se observaron pequeños hoyuelos cuando se removió el biofilm (Fig. 104). Dicha película estaba ausente en las muestras sin PC (Fig. 105).

DISCUSIÓN

Se ha visto en el capítulo introductorio que los procesos que conducen a la formación de una biopelícula comienzan por el transporte y adsorción de sustancias orgánicas siguiendo con la adherencia de las bacterias iniciadoras de cuyo metabolismo resulta un incremento de las células adheridas y material asociado que conduce posteriormente al desprendimiento de ciertas porciones del biofilm. Consecuentemente, la acumulación de células en la interfase metal solución es el resultado del balance de varios procesos (Escher, 1987):

$$\frac{d X_c}{d t} = r_{ac} - r_{dc} + X_c (K_g - K_d)$$

acumulación adsorción desorción crecimiento - desprendimiento

X_c = concentración de células sobre el sustrato

t = tiempo

r_{ac} = velocidad de adsorción de células

r_{dc} = velocidad de desorción de células

K_g = probabilidad del crecimiento de las células

K_d = probabilidad del desprendimiento de las células.

Se considera que los procesos de adsorción dominan durante un período de tiempo breve, que en algunos casos es de alrededor de 100 minutos contados a partir de la inmersión de la muestra sin biofouling. Según los resultados de Escher (1987) los procesos que se relacionan con el crecimiento comenzarían a contribuir en el balance en un estado posterior. Los procesos de adsorción continuarían ejerciendo su influencia en la fase de crecimiento del biofilm pero no en el estado estacionario, donde no hay acumulación.

Los resultados obtenidos muestran que existe un decrecimiento importante en el número de células adheridas debido a la aplicación de PC, y que esta disminución es mayor cuanto más negativo es el potencial aplicado. El decrecimiento observado es mayor durante las primeras horas de aplicación de PC (la longitud de dicho período depende de la temperatura). La Tabla XII muestra que la desorción se ve favorecida cuando se aplica la PC.

Basándonos en el modelo anteriormente mencionado (Escher, 1987) se pueden explicar los resultados obtenidos utilizando bacterias aeróbicas. El mayor efecto de la PC se observó durante las primeras horas de formación del biofilm, período donde dominarían los procesos de adsorción, por lo que es probable que la PC interfiera en dichos procesos, reduciendo el número de células adsorbidas (favoreciendo la desorción). Como el número de células adheridas durante el período de crecimiento exponencial depende del número de bacterias adheridas durante el período de latencia, en el que dominan los procesos de adsorción, la PC afectará también, indirectamente, al proceso de formación de la biopelícula durante la fase exponencial. No existiendo influencia de la adsorción en el período estacionario, la PC no debería afectar dicho período, tal cual lo muestran los resultados experimentales.

Los biofilms formados con BSR se encontraban en la fase de crecimiento exponencial después de 7 días de inmersión de los cupones en el cultivo. Sin embargo, luego de la aplicación de la protección catódica el número de células no disminuyó respecto al control sin protección pero tampoco se observó un crecimiento, tal como indicarían resultados previos (Guezennec, 1991).

Es importante destacar que bajo este nivel de PC no ha podido evitarse el ataque localizado por parte de los metabolitos de las BRS, ya que se encontraron

picaduras en muestras con y sin tratamiento.

Los valores de densidades de corriente vs tiempo obtenidos en el agua de mar sintética muestran la forma de hombro característica que presentan los transitorios de corriente relacionados con la formación de depósitos calcáreos. Dicha corriente luego decrece y llega a un estado quasi-estacionario en períodos superiores a 24 h. El tiempo necesario en alcanzar dicho estado estacionario podría asociarse con la cinética de formación de este tipo de depósitos (Lin y Dexter, 1988). Los registros realizados en el medio inoculado presentan una forma diferente, donde no puede definirse claramente un tiempo de inducción. Esto indicaría que la formación de los depósitos calcáreos se ve afectada por la presencia de las bacterias, coincidiendo con resultados previos (Lin y Dexter, 1988; Edyvean et al, 1992).

La evolución de la corriente en función del tiempo de los cupones sumergidos en los medios inoculados, muestra un comportamiento similar al de los sumergidos en medios naturales con bajos niveles de protección (Johnsen y Bardal, 1986; Dexter y Lin, 1992). Efectos de despolarización similares fueron también descritos para otros metales (Mollica, 1990) como ya se ha discutido secciones previas. Edyvean et al. (1992), consideran que las sustancias orgánicas desaceleran el proceso de precipitación de compuestos calcáreos y de esta forma influyen indirectamente sobre el valor de la corriente.

Los resultados descritos previamente ofrecen una evidencia experimental de la existencia de interacciones entre el fouling bacteriano, la protección catódica y los depósitos calcáreos: a) la adsorción de las bacterias aeróbicas es reducida por la aplicación de la PC, la adsorción de bacterias anaeróbicas no parece verse afectada; b) los valores de la corriente de PC son modificados por los efectos de despolarización causados por biofilms aeróbicos, derivando en mayores costos; c) tanto las biopelículas aeróbicas como las anaeróbicas modifican la estructura de los depósitos calcáreos; d) los valores de corriente decrecen por la formación de depósitos calcáreos.

CONCLUSIONES

I. CONCLUSIONES PARTICULARES DE CADA SISTEMA ESTUDIADO

Sistema I : Platino/soluciones salinas conteniendo glucosa.

- La electrooxidación de glucosa sobre platino conduce a la formación de diferentes especies adsorbidas que bloquean los sitios activos del electrocatalizador reduciendo su eficiencia.

- La desorción de las especies adsorbidas a pH neutro se produce a potenciales mayores que -0,1 V.

- La reacción de electrooxidación de glucosa se ve alterada en presencia de altas concentraciones de iones fosfatos debido a la competencia por los sitios de adsorción y a la capacidad reguladora del pH de los mismos..

- La reducción de los óxidos de platino se ve acelerada en presencia de glucosa y como consecuencia de ello el potencial a circuito abierto desciende abruptamente. Dicho descenso ocurre luego de un tiempo de inducción que depende de la concentración de glucosa.

Sistema II: plata/plasma humano y soluciones salinas conteniendo cloruros y sulfuros.

- Los iones agresivos cloruros y sulfuros que pueden contener los fluidos biológicos en contacto con los conos endodónticos interaccionan con la plata dando lugar a:

a) Deterioro estético de las restauraciones dentales por la producción de cloruros y sulfuros de plata a muy bajos potenciales.

b) Corrosión metálica que produce una obturación defectuosa en el caso de los implantes endodónticos.

- La adsorción de las proteínas plasmáticas dificulta la acción de los aniones agresivos y cambia las características estructurales del depósito.

Sistema III: Aluminio/plasma o sangre humanos y soluciones salinas conteniendo cloruros.

- Como consecuencia de la interacción de los productos de corrosión del metal y los fluidos biológicos se produce la desnaturalización de las proteínas

plasmáticas.

- El potencial de picado del aluminio se desplaza en sentido anódico en presencia de plasma humano. Este desplazamiento puede justificarse teniendo en cuenta que: a) el plasma tiene un eficaz sistema de regulación del pH, manteniéndolo neutro; b) la adsorción de proteínas plasmáticas compite con la de iones agresivos.

- La morfología cristalográfica de las picaduras es similar en plasma y en las soluciones salinas conteniendo cloruros.

Sistema IV: Metales de aplicación industrial/agua de mar natural.

- La velocidad de formación del microfouling en las superficies tóxicas (cobre y aleaciones) es baja. Los microorganismos demandan procesos de acondicionamiento (adsorción de moléculas orgánicas e iones) más exigentes en estas superficies.

- La mayor concentración de material orgánico y microorganismos presentes en el agua de mar poluida acelera el proceso de colonización bacteriana.

- La abundancia y diversidad de especies adheridas depende de la naturaleza del metal. Los metales ensayados pueden ordenarse de acuerdo a la abundancia y diversidad de especies adheridas sobre ellos del siguiente modo:

Ti > aceros inoxidable > aluminio > aleaciones de cobre > cobre.

- La diversidad de las especies adheridas se relaciona con el nivel de toxicidad del sustrato y con el grado de polución de las aguas. Consecuentemente dominan las especies que más se adaptan a las condiciones imperantes.

- Los microorganismos adheridos sobre superficies tóxicas exudan mayor cantidad de material polimérico extracelular en las etapas iniciales de adherencia que aquéllos que adhieren sobre superficies no tóxicas.

- La producción de material polimérico extracelular sobre los metales no tóxicos es más abundante en aguas poluidas.

- En superficies rugosas (tratadas con papel de esmeril 320) las bacterias ven condicionada su ubicación de acuerdo a su tamaño, debido a impedimentos

estéricos.

- Para mejorar su fijación a las superficies rugosas los microorganismos exudan material polimérico extracelular no sólo en su base sino también en forma lateral.

- En condiciones de flujo laminar, el grado de rugosidad no afecta ni la abundancia ni la diversidad de especies adheridas.

- Luego de una semana de inmersión las rugosidades de los aceros inoxidable son cubiertas con material mucilaginoso.

- A altas velocidades de flujo se observa mayor abundancia de formas filamentosas que son probablemente adaptaciones de algunas especies a las condiciones ambientales.

- La aparición de picaduras prematuramente y la dispersión en los valores del potencial a circuito abierto en el acero 304 está directamente relacionada con la presencia de microorganismos en el agua de mar.

Sistema V: Aleación cobre-níquel 70/30 /agua de mar natural y sintética.

- La dependencia de la corriente y potencial de pico (voltagrama del cobre níquel en soluciones conteniendo cloruros) con el pH y la concentración de cloruros y la respuesta de la corriente con el tiempo justifican la formación de sales de Cu^{2+} que precipitan en la forma de $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$ (paratacamita). La presencia de oxígeno favorece la transformación $\text{Cu}^{1+} \rightleftharpoons \text{Cu}^{2+}$.

- A bajas relaciones cloruros/sulfatos existe una gran velocidad de disolución de la aleación cobre-níquel. Al incrementar la concentración de cloruros se logra una pobre pasivación seguida de ataque localizado.

- La estructura original de dos capas encontrada en soluciones de NaCl y agua de mar artificial y natural no poluida se transforma en presencia de sulfuros en una estructura compleja, multicapa.

- En presencia de sulfuros las capas superficiales se contaminan y se forman tres o más capas de distinta porosidad. En dichas capas las relaciones

Cu/Ni y Cu/Fe son menores que la del metal base.

- Los valores de potencial a circuito abierto son similares tanto si el sulfuro está adicionado artificialmente en el medio, si se trata de agua de mar contaminada con sulfuros o si es un cultivo de bacterias reductoras de sulfato.

- En el caso de cultivos de bacterias reductoras de sulfato se observa un ataque localizado por debajo de la colonia, donde se encuentra una estructura esponjosa en la que se concentra el cobre y compuestos de azufre. La concentración de azufre disminuye al alejarse de las colonias.

- Los sulfuros biogénicos, concentrados en áreas limitadas de la interfase metal/solución, incrementan el efecto corrosivo de los cloruros sobre las aleaciones de cobre y facilitan la iniciación del ataque localizado.

- El material biológico se entremezcla con las capas pasivas de la aleación cobre-níquel y altera su estructura y adherencia.

- El desprendimiento de colonias y microorganismos aislados puede estar acompañado del desprendimiento de productos de corrosión. Esto puede dar lugar a la creación de celdas de aireación diferencial.

- Existe un marcado incremento del potencial a circuito abierto en presencia de la biopelícula bacteriana observable a altas concentraciones de oxígeno. Dicho aumento de potencial puede atribuirse a la despolarización de la reacción de reducción de oxígeno.

Sistema VI: Aceros al carbono e inoxidable/ agua de mar sintética inoculada con microorganismos.

- Las bacterias se adhirieron a la superficie y se entremezclaron con los productos de corrosión de las muestras de acero al carbono sumergidas en el agua de enfriamiento.

- Los cupones de acero al carbono expuestos en los dos sistemas de enfriamiento mostraron diferencias en la estructura superficial y resistencia a la corrosión. Dichas diferencias pueden atribuirse a la mayor o menor actividad biológica que presentaba el agua de refrigeración en cada caso.

- La concentración de bacterias sésiles encontradas (mayor que 10^6 CFU/cm²) en el sistema no tratado con biocidas representa un alto riesgo de biocorrosión.

- El material biológico dificultó la penetración de los inhibidores de corrosión utilizados.

- Los microorganismos pueden inducir el ataque corrosivo ya sea en forma directa, favoreciendo la disolución del metal, o bien indirecta, dificultando la acción de los inhibidores de corrosión.

Sistema VII: Acero inoxidable con protección catódica/agua de mar sintética inoculada con microorganismos.

- El número de bacterias aeróbicas adheridas en las primeras etapas de formación del biofilm disminuye cuando se aplica protección catódica.

- El decrecimiento mencionado anteriormente es mayor cuanto más negativo es el potencial aplicado.

- Después de alcanzado el estado estacionario de crecimiento del biofilm el efecto de la protección catódica no es relevante.

- La reducción de la adherencia bacteriana puede atribuirse a la interferencia de la protección catódica con los procesos de adsorción.

- El efecto de la aplicación de protección catódica es más significativo a bajas temperaturas, i.e. cuando la velocidad de crecimiento es baja.

- Cuando las corrientes aplicadas son bajas el biofilm puede modificar la estructura de los depósitos calcáreos.

- En presencia de biopelículas de bacterias aeróbicas se necesitan mayores corrientes para proteger las muestras de acero inoxidable, incrementando el costo del tratamiento.

- La protección catódica no impidió el ataque localizado en presencia de bacterias reductoras de sulfatos.

II. CONCLUSIONES GENERALES

Del estudio de las interacciones metal/biopelícula/solución en los sistemas estudiados puede concluirse que las mismas dan lugar a efectos de diversa índole que incluyen alteraciones en las tres fases. Se han observado modificaciones en las características superficiales y propiedades fisicoquímicas del metal; en los procesos de formación y en las propiedades de la biopelícula; en la composición de la biopelícula y la solución y en los procesos de transporte entre las fases.

La presencia del biofouling molecular en la interfase metal/ solución puede alterar en un metal noble como el platino: a) las propiedades catalíticas del mismo (las sustancias orgánicas adsorbidas bloquean sus sitios activos reduciendo su eficiencia como catalizador); b) el valor de los parámetros fisicoquímicos como el potencial a circuito abierto (las sustancias orgánicas adsorbidas reaccionan con los óxidos de platino y los reducen, por lo que desciende el valor de dicho potencial).

El microfouling puede igualmente cambiar el valor del potencial a circuito abierto en los metales de transición activo-pasivo. Así, en los aceros inoxidable del tipo AISI 304, 316 y 430 y en las aleaciones de cobre se han observado valores completamente diferentes de este parámetro en agua de mar natural filtrada y sin filtrar que dan cuenta de la participación de los microorganismos en los cambios observados. Los resultados están de acuerdo con la teoría que sustenta la existencia de una despolarización de la reacción de reducción de oxígeno sobre el metal causada por la presencia de la biopelícula. Como consecuencia de la despolarización catódica, se ha comprobado que en presencia de películas bacterianas aeróbicas se necesitan mayores corrientes para proteger catódicamente las muestras de acero inoxidable.

La acción de los fluidos biológicos sobre el metal puede producir tanto el deterioro estético de un metal a través de la formación de depósitos sobre su superficie (opacado de las restauraciones dentales, por ejemplo) como el deterioro funcional al conducir a la corrosión del metal (corrosión de los conos de plata en los implantes endodónticos, corrosión de los tubos de los intercambiadores de calor).

La biopelícula puede inducir la corrosión del metal alterando las características protectoras de las capas de productos de corrosión y depósitos inorgánicos. Se han observado distintos efectos: a) el material biológico se

intercala, ya sea entre las capas pasivas, entre los productos de corrosión o entre los depósitos calcáreos (aleación cobre-níquel y acero al carbono en contacto con agua de sistemas de enfriamiento, acero inoxidable protegido catódicamente) modificando la adherencia y homogeneidad de los mismos; b) el desprendimiento del material biológico puede conducir al desprendimiento de productos de corrosión depositados por encima y por debajo de los mismos, creando celdas de aireación diferencial; c) los metabolitos bacterianos, especialmente los de las bacterias sulfato reductoras se concentran en áreas limitadas de la superficie metálica y cambian la estructura y composición de los productos de corrosión por debajo y alrededor de las colonias.

La acción del metal sobre la biopelícula puede dar como resultado la alteración de las propiedades del material biológico, como es el caso de la desnaturalización de las proteínas plasmáticas. El metal también ejerce una notable influencia en las primeras etapas de los procesos de adherencia bacteriana, entre los efectos observados pueden mencionarse: a) el período de acondicionamiento de la superficie metálica (relacionado con la formación del biofouling molecular) es más prolongado en el caso de las superficies tóxicas (cobre y aleaciones); b) los microorganismos exudan mayor cantidad de material polimérico extracelular sobre los metales tóxicos; c) como consecuencia de a) y b) las superficies tóxicas presentan baja velocidad de formación de microfouling; d) la abundancia y la diversidad de especies adheridas depende de la naturaleza del metal; e) la rugosidad de la superficie metálica condiciona la forma de fijación y la ubicación de las bacterias según su tamaño; f) el número de microorganismos adheridos disminuye cuando se aplica protección catódica, siendo mayor el efecto cuanto más catódico es el potencial aplicado y menor la temperatura; g) la protección catódica interfiere en los procesos de adsorción e indirectamente en los procesos de crecimiento.

En cuanto a la influencia de la solución sobre la biopelícula se ha podido comprobar que en presencia de agua de mar poluida también los metales no tóxicos se cubren con abundante material mucilaginoso. La gran concentración de material orgánico en el agua acelera la colonización bacteriana pero la diversidad de especies de microorganismos se ve reducida en ambientes poluidos.

Metal y biopelícula interaccionan con la solución y pueden modificar la composición de la misma ya sea por los metabolitos de las bacterias, que pueden ser de naturaleza agresiva (sulfuros producidos por las bacterias sulfato reductoras)

como por iones provenientes de la biocorrosión, que pueden producir efectos tóxicos sobre el sistema y problemas de biocompatibilidad (iones plata).

La biopelícula puede ocasionar alteraciones en los procesos de transporte de iones y moléculas hacia la superficie metálica. Se ha observado que la presencia de material biológico limita la penetración de los inhibidores de corrosión por debajo del mismo, quedando desprotegidas dichas áreas. Consecuentemente el microfouling puede también inducir el ataque corrosivo en forma indirecta, dificultando la acción de los inhibidores de corrosión.

Los efectos anteriormente mencionados pueden dar lugar a perjuicios que pueden estar relacionados ya sea con intereses netamente económicos o con el deterioro de la calidad de vida. Los primeros se asocian en general a aumentos de los costos de producción debidos a incrementos en gastos de mantenimiento y servicios generales y a la disminución de la eficiencia. Los segundos incluyen daños en la salud humana y ambiental (reposición de implantes, ineficiencia de sensores biológicos, contaminación de fluidos biológicos y del ambiente).

BIBLIOGRAFÍA

6. BIBLIOGRAFÍA

- ASTM standards: G 3 (1981). "Recommended Practice for Conventions Applicable to Electrochemical Measurements in Corrosion Testing".
- ASTM standards: G 5 (1982). "Polarization Practice for Standard Reference Method for Making Potentiostatic and Potentiodynamic Polarization Measurements.
- Baier, R.E., Shafrin, E.G., Zisman, W.A.(1968)."Adhesion: mechanism that assist or impede it." *Science*, **172**, 1360.
- Baier, R.E. (1973). "Influence of the initial surface condition of materials on bioadhesion", *Proc. of the IIIth International Congress on Marine Corrosion and Fouling*, Northwestern University Press, Evanston, p. 633.
- Baier, R.E. (1975). "Applied chemistry to protein interfaces", en *Advances in Chemical Series*, (Baier, R.E. ed.), Washington DC, **145**, 1.
- Baier, R.E. (1978). "Key events in blood interactions at nonphysiologic interfaces. A personal primer." *Artificial Organs*, **2** (4), 1.
- Baier, R.E. (1980) en *Adhesion in biological systems*, (ed. Manly, R.S.), Academic Press, New York, p. 15.
- Bastida, R. (1971 a). "Las incrustaciones biológicas en el Puerto de Mar del Plata, período 1966/1967." *Revista Museo Argentino de Ciencias naturales Bernardino Rivadavia, Hidrobiología*, **3**, 285.
- Bastida, R. (1971 b). "Las incrustaciones biológicas en las costas argentinas. La fijación mensual en el Puerto de mar del Plata durante tres años consecutivos." *Corrosión y protección*, **2**, 21.
- Beech, I, Campbell, S.A., Walsh, F.C., Bahaj, A.S., James, R. (1992) "The effect of magnetic fields on biofilm formation by sulphate reducing bacteria and its implications in corrosion of iron and steel", en *Proceedings of de NSF-CONICET Workshop on Biocorrosion and Biofouling. Metal-Microbe interactions*, p. 5.
- Bessman, S.P. y Schultz, R.D. (1973). "Prototype glucose oxygen sensor for the

artificial pancreas." *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, **19**, 361.

- Bianchi G., Fiori, G., Longhi, P., Mazza, F. (1978). *Corrosion*, **34**, 396.

- Blundy, R.G., Pryor, M.J. (1972). "The potential dependence of reaction product composition on copper-nickel alloys", *Corrosion Science*, **12**, 65.

- Blunn, G. (1986). "Biological fouling of copper and copper alloys", en *Biodeterioration* 6, Barry S., Houghton, D.R., Lewellyn, G.C., O'Rear, C.E. eds, CAB International, p. 567.

- Bockris, J. O'M., Dahr, H.P, Langham, L.R. (1983). "An electrochemical approach to the prevention of biofouling phenomena" Final Report No 14-34-0446 to the U.S. Dept. of Interior, Bureau of Reclamation, Office of Water Research.

- Booth, A.K., Booth, G.H (1962). "Polarization studies of mild steel in cultures of sulphate-reducing bacteria. Part 2: Thermophilic organisms". *Trans. Faraday Soc.*, **58**, 110.

- Booth, G.H., Tiller, A.K. (1962). "Polarization studies of mild steel in cultures of sulphate-reducing bacteria. Part 3: Halophilic Organisms", *Trans. Faraday Soc.*, **58**, 2510.

- Booth, G.H., Tiller, A.K. (1968). " Cathodic characteristics of mild steel in suspensions of sulphate-reducing bacteria". *Corros. Sci.*, **8**, 583.

- Borenstein, S. (1988). "Microbially influenced corrosion failures of austenitic stainless steels welds". *Materials Performance*, **28**, 62.

- Brady, J.M., y del Rio, C. (1975). "Corrosion of endodontic silver cones in humans: A scanning electron microscope and X-ray microprobe study." *J. Endod.*, **1**, 205.

- Brankevich, G.J, Bastida, R., Martínez, D. (1985). "Estudios ecológicos sobre las comunidades incrustantes de la Central Eléctrica Necochea (Puerto Quequén, argentina)." *Anales del CIDEPINT 1985*, p. 172.

- Brankevich, G.J.; Mele, M.F.L de; Videla, H.A. (1990). "Biofouling and corrosion in coastal power plant cooling water systems". *Marine Technol Soc. J.*, **24**, 18.

- Brankevich, G.J., Bastida, R. (1992). "La problemática del biofouling en los sistemas de refrigeración de centrales eléctricas costeras de la provincia de Buenos Aires (Argentina)", en *Anales del CIDEPINT*, p.279.
- Brossard, L. (1984). "Potentiodynamic investigations of copper in LiCl solutions," *Corrosion (NACE)*, **40**, 420.
- Brown, M.R.W, Williams, P. (1985). "The influence of environment on envelope properties affecting survival of bacteria in infections" *Ann. Rev. Microbiol.*, **39**, 527.
- Butler, G, Ison, C.K. (1966) en *Corrosion and its prevention in waters*, London, Leonard Hill.
- Cairns-Smith, A.G., Hartman, H., eds., 1986. *Clay minerals and the origin of life*. Cambridge: Cambridge Univ. Press.
- Campbell, H.S. (1974). "A review: Pitting corrosion of copper and its alloys", en *Localized Corrosion*, Houston, TX, NACE, p. 625.
- Carson, J. (1980). *The microbiological aspects of early stages of marine fouling*. PHD Thesis, University of Aston, BLLD 32468-180.
- Corpe, W.A. (1978). "Ecology of Microbial Attachment and Growth on Solid Surfaces", *Proceedings of the Microbiology of Power Plant Thermal Effluents*, R.M. Gerhold, ed. University of Iowa City, IA, p. 56.
- Costello, J.A. (1969). *Int. Biodeter.*, **5**, 101.
- Costello, J.A. (1974). "Cathodic depolarization by sulphate reducing bacteria". *S. Afr. J. Sci.*, **70**, 202.
- Costerton, J.W., G.G. Geesey, K.J. Cheng. (1978). "How bacteria stick", *Sci. Am.*, **238**, 86.
- Costerton, J.W., Geesey, G.G. and Johns, P.A. (1988). "Bacterial biofilms in relation to internal corrosion monitoring and biocide strategies". *Materials Performance*, **27**, 49.

- Costerton, J.W. (1992). "Pivotal role of biofilms in the focused attack of bacteria on insoluble substrates". *International Biodeterioration and Biodegradation*. **30**, 123.
- Chamberlain, A.H.L., Van Woerkom, R. (1986). "The effects of adsorbed marine organics on microbial fouling" en *Biodeterioration* 6, ed. S. Barry *et al.*, Slough, CAB International. p. 556.
- Chamberlain, A.H.L., Garner, B.J. (1988). "The influence of iron content on the biofouling resistance of 90/10 copper-nickel alloys," *Biofouling*, **1**, 79.
- Chandrasekaran, P, Dexter, S.C. (1993). "Mechanism of potential ennoblement on passive metals by seawater biofilms." Paper No. 493, *Corrosion'93*, NACE, Houston, TX.
- Characklis, W.G. (1979). *Biofilms development and destruction*. Final Report, Electric Power Research Inst., No. RP 902-1, Palo Alto, C.A.
- Characklis, W.G. (1981). "Fouling biofilm development: A process analysis". *Biotechnol. and Bioeng.*, **23**, 1923.
- Characklis, W.G., Trulear, M.G., Bryers, J.D., Zilver. N. (1982). "Dynamics of biofilm processes: Methods." *Water Res*, **16**,1207.
- Characklis, W.G. (1984). "*Microbial adhesion and Aggregation*", ed. K.C. Marshall, Dahlem Konferenzen, Berlin, Springer, Verlag, 1984, p. 137.
- Characklis, W.G, Wilderer, P.A. eds (1989). "Biofilm: Properties and Processes" en *Structure and Function of Biofilms*, John Willey & Sons Ltd., p.351.
- Characklis, W.G. (1990). "Process Analysis" en *Biofilms*, eds. W.G. Characklis and K.C. Marshall, John Wiley and Sons Ltd, New York, p. 293.
- Chauhan, P.K., Gadiyar, H.S. (1985). "An XPS study of the corrosion of Cu-10Ni alloy in unpolluted and polluted sea-water, the effect of FeSO₄ addition," *Corros. Sci.*, **25**, 55.
- Chialvo, M.R.G. de, Salvarezza, R.C., Vázquez Moll, D., Arvia, A.J. (1985).

"Kinetics of passivation and pitting corrosion of polycrystalline copper in borate buffer solutions containing sodium chloride." *J. Electrochem. Soc.*, **30**, 1501.

- Dahr, H.P., Howell, D.W., Bockris, J.O'M. (1982). "The use of *in situ* chemical reduction of oxygen in the diminution of adsorbed bacteria on metals in seawater. *J. Electrochem. Soc.*, **129**, 2178.

De Cristóforo, N.B., Acosta, C.A., Salvarezza, R.C., Videla, H.A. (1986). *Corrosion*, **42**, 201.

- Dempsey, M.J. (1981). *Marine Biology*, **61**, 305.

- Dexter, S.C. (1976). "Influence of substrate wettability on the formation of bacterial slime films on solid surfaces immersed in natural seawater", en *Proc. 4th Intl. Congr. on Marine Corrosion and Fouling*, p 137.

- Dexter, S.C., Gao, G.Y. (1988). "Effect of seawater biofilms on corrosion potential and oxygen reduction of stainless steel." *Corrosion (NACE)*, **44**, 717.

- Dexter, S.C., Lin, S.H. (1990). "Effect of marine bacteria on calcareous deposition," *Corrosion'90*, paper No. 157, NACE, Houston, Tx.

- Dexter, S.C., Duquette, D.J., Siebert, O.W.; Videla, H.A. (1991). "Use and limitations of electrochemical techniques for investigating microbiological influenced corrosion". *Corrosion*, **47**, 308.

- Dexter, S.C., Lin, S.H. (1992). "Effects of marine biofouling on cathodic protection," *International Biodeterioration and Biodegradation*, **29**, 231.

- Dexter, S.C. (1992). "Microbial corrosion in marine environments: Effect of microfouling organisms on corrosion of passive metals," en *Proc. of the NSF-CONICET Workshop on Biocorrosion and Biofouling. Metal/microbe interactions*, p. 171.

- Dobb, D.E. (1985). "Influence of organic gels on the corrosion of 70/30 cupronickel alloy in sea water." PhD Thesis, Montana State University.

- Duquette, D.J., Ricker, R.E. (1986). "Electrochemical aspects of microbiologically

induced corrosion." *Proc. Int. Conf. on Biologically Induced Corrosion, NACE-8*, p.121.

- Edyvean, R.G.J., Maines, A.D., Hutchinson, C.J., Silk, N.J. and Evans, L.V. (1992). "Interactions between cathodic protection and bacterial settlement on steel in seawater," *International Biodeterioration & Biodegradation*, **29**, 251.

- Edyvean, R.G.J., Videla, H.A. (1991). "Biological corrosion". *Interdisciplinary Science Review*, **16**, 267.

- Eford, K.D. (1970). "Crevice corrosion of copper-nickel alloy and its relation to the experimental Pourbaix diagram." *Ph.D Thesis*, University of Miami, Florida.

- Eiselstein, L.E., Syrett, B.C., Wing, S.S., Caligiuri, R.D. (1983). "The accelerated corrosion of Cu-Ni alloys in sulphide-polluted seawater: mechanism No. 2," *Corros. Sci.* **23**, 223.

- Ellis, D. (1919). *Iron bacteria*, London, Methuen.

- Ewing, S.W. (1955). "Electrochemical studies of the hydrogen sulfide corrosion mechanism", *Corrosion (NACE)*, **11**, 497t.

- Escher, A.E. (1987). "Colonization of a smooth surface by *Pseudomonas aeruginosa*: Image Analysis Methods." Doctoral dissertation. Montana State University, Bozeman, MT.

- Faita, G., Fiori, G, Salvatore, D. (1975). "Copper behaviour in acid and alkaline brines-II" *Corros. Sci.*, **15**, 393.

- Figueroa, M.G., Mele, M.F.L. de, Salvarezza, R.C., Arvia, A.J. (1987). "Electrochemical behavior of copper in potassium thiocyanate solution. II. Analysis of potentiostatic current transients." *Electrochim. Acta*, **32**, 231.

- Flatt, R.K., Brook, P.A. (1971). "The effects of anion concentration on the anodic polarization of copper, zinc and brass." *Corros. Sci.*, **11**, 185.

- Gaines R.H. (1910). "Bacterial activity as corrosive influence in the soil". *J. Eng. Ind. Chem.*, **2**, 128.

- Galvele, J.R. (1976). "Transport processes on the mechanism of pitting of metals." *J. Electrochem. Soc.*, **123**, 464.
- Galvele, J.R. (1977). "Present state of understanding of the breakdown of passivity and repassivation." *Fourth International Symposium on Passivity*, Airlie, Virginia, U.S.A.
- Garrett, J.H. (1891). *The action of water on lead*, London, ed. H.K. Lewis.
- Gassa, L.M., Vilche, J.R., Arvía, A.J. (1983). "A potentiodynamic study of anodic film formation on nickel in borate solutions," *J. Appl. Electrochem.*, **13**, 135.
- Gebhardt, U., Luft, G, Richter, G.J. y von Sturm, F. (1978). "Development of an implantable electrocatalytic glucose sensor." *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **5**, 607.
- Geesey, G.G., Bremer, P.J.(1992) "Interactions of exopolymers of corrosive biofilm microorganisms with copper ions", en *Proceedings of de NSF-CONICET workshop on Biocorrosion and Biofouling. Metal-Microbe Interactions*", p. 36.
- Gerchakov, S.M., Marszalek, D.S., Roth, F.J., Udey, L.R. (1977). "Succession of periphytic microorganisms on metal and glass surfaces in natural seawater", en *Proceedings of the 4th International Congress on marine corrosion and fouling*, Jean-les-Pins, Antibes, France, p. 203.
- Gerchakov, S.M., Little, B.J., Wagner, P.(1986). "Probing microbiologically induced corrosion". *Corrosion (NACE)*, **42**, 689.
- Giúdice. C. (1992). *Prevención de la fijación de organismos incrustantes por medio de pinturas*, Tesis Doctoral, Univ. Nac. de La Plata.
- Goldberg, F. (1982). "Endodontic implant: A scanning electron microscopy study." *Intern. Endod. J.*, **15**, 77.
- Gómez de Saravia, S.G., Mele, M.F.L. de, Videla, H.A. (1989). "Influencia de los cambios estacionales en la formación de biopelículas sobre sustratos metálicos expuestos a agua de mar y su relación con la corrosión de los mismos", en *Anales del 3er Congreso Ibero-americano de Corrosión y Protección (ABRACO)*, Río de

Janeiro, Brasil, p. 1544.

- Gómez de Saravia, S.G., Mele, M.F.L. de, Videla, H.A. (1990). "Interactions of biofilms and inorganic passive layers in the corrosion of Cu/Ni alloys in chloride environments." *Corrosion*, NACE, **46**, 302.
- Gómez de Saravia, S.G. (1991). "Corrosión microbiológica de metales y aleaciones en medio marino". Tesis Doctoral. Univ. Nac. de La Plata
- Gómez de Saravia, S.G., Guimet, P.S., Videla, H.A. (1992). "Uso de técnicas microscópicas para el estudio de adherencia microbiana sobre diversas superficies metálicas", en *Anales del 4º Congreso Ibero-Americano de Corrosion y Protección*, Vol. **2**, p. 381
- Goupil, D.W., De Palma, V.A., Baier, R.E. (1980). "Physical chemical characteristics of the macromolecular conditioning film in biological fouling." en *Proceedings of the 5th Intern. Congress on Marine Corrosion and Fouling*, Barcelona, España, p. 401.
- Grant, R.; Bate, E.; Myers, W.H. (1921). *Inst. Engrs. Australia Sydney Div 8*.
- Guezennec, J.(1991). "Influence of cathodic protection of mild steel on the growth of sulphate-reducing bacteria at 35 C in marine sediments," *Biofouling*, **3**, 339.
- Gunn, N.; Woods, D.C.; Blunn, G.; Fletcher, R.L.; Jones, E.B.G. (1987). "Problems associated with marine microbial fouling, en *Microbial problems in the off-shore oil industry*, eds. E.C. Hill; J.H. Shennan; R.J. Watkinson, The Institute of Petroleum, London, John Willey and Sons, Chichester, p. 175.
- Hadley, R.F. (1943). "The influence of *Sporovibrio desulfuricans* on the current and potential behavior of corroding iron". *National Bureau of Standards Corrosion Conference*.
- Hardy, J.A. (1983). "Utilization of cathodic hydrogen by sulphate reducing bacteria" *Br. Corros. J.*, **18**, 190.
- Hartt, W.H., Culberson, C.H., Smith, S.W. (1984). "Calcareous deposits on metal

surfaces in seawater. A critical review," *Corrosion (NACE)*, **40**, 609.

- Hauffe, W., Heitbaum, J. (1978). "The electrooxidation of ethylene glycol at platinum in potassium hydroxide," *Electrochim. Acta*, **23**, 299.

- Hernández, G., Hartt, W.H., Videla, H.A. (1992). "Biofilms and their influence on cathodic protection: a literature survey", *Proc. 1st Pan American Corrosion and Protection Congress*, Vol. II, p. 391.

- Horvath, J. (1960). "Contributions to the mechanism of anerobic microbiological corrosion." *Acta Chimica Hungarian*, **25**, 65.

- Hueck, H.J. (1965) "The biodeterioration of materials as a part of hylobiology." *Material und Organismen*, **1**(1), 5-34.

- Hunter, K. (1980). *Limnology and Oceanography* **25**, 807.

- Hunter, K.A., Liss, P.S. (1982). "Organic matter and the surface charge of suspended particles in estuarine waters." *Limnology and Oceanography*, **27**, 322.

- Ijsseling, F.J., Krougman, J.M., Drolenga, L.J.P. (1980). "The corrosion behaviour of the system CuNi10Fe/seawater. The protective layer of corrosion products." en *Proc. 5th Intl. Congress on Marine Corrosion and Fouling*, p. 146.

- Iverson, W.P. (1966). "Direct evidence for the cathodic depolarization theory of bacterial corrosion", *Science*, **151**, 986.

- Iverson, W.P. (1987). "Microbial corrosion of metals." *Adv. Appl. Microbiol.*, **32**, 1.

- Johsen R., Bardal, E. (1986). "The effect of a microbial slime layer on stainless steel in natural seawater," *Corrosion'86*, paper No. 227, NACE, Houston, Tx.

- Kaesche, H. (1968). "Mecanisme de la corrosion par Piqûres." *Corros. Traitements Protection Finition*, **17**, 389.

- Kato, C., Ateya, B.G., Castle, J.E., Pickering, H.W. (1980). "On the mechanism of corrosion of Cu-9.4Ni-1.7Fe alloy in air saturated aqueous NaCl solution," *J. Electrochem. Soc.*, **127**, 1890.
- Kato, C, Pickering, H.W. (1984). " A rotating disk study of the corrosion behavior of Cu-9.4Ni-1.7Fe alloy in air saturated aqueous NaCl solution." *J. Electrochem. Soc.*, **131**, 1219.
- Kato, C., Pickering, H.W., Castle, J.E. (1984). "Effect of sulfide on the corrosion of Cu-9.4Ni-1.7Fe alloy in aqueous NaCl solution". *J. Electrochem. Soc.*, **131**, 1225.
- King, R.A., Miller, D.A., Smith, J.S. (1973). *Br. Corros. J.*, **8**, 137.
- Lee, H.P., Nobe, K. (1984). "Film formation and current oscillations in the electrodisolution of Cu in acidic chloride media," *J. Electrochem. Soc.*, **132**, 1031.
- Lin, S.H., Dexter, S.C. (1988). "Effect of temperature and magnesium ions on calcareous deposition," *Corrosion (NACE)*, **44**, 615.
- Little, B.J., Wagner, P., Duquette, D. (1987). "Microbiologically induced cathodic depolarization.", *Corrosion'87*, Paper No 370, NACE, Houston, Tx.
- Little, B., Wagner, P, Duquette, D. (1988). "Microbiologically induced increase in corrosion current density of stainless steel under cathodic protection," *Corrosion (NACE)*, **44**, 270.
- Little, B.J., Ray, R., Wagner, P., Lewandowski, Z., Lee, W.C., Characklis, W.G., Mansfeld, F. (1990). "Electrochemical behavior of stainless steel in natural seawater. Paper N° 150, Corrosion'90, NACE, Houston, TX.
- Little, B.J.; Mansfeld, F. (1991). "A technical review of electrochemical techniques applied to microbiologically influenced corrosion." *Corros. Sci.*, **32**, 247.
- Lorenz, W.J., Mansfeld, F. (1981). "Determination of corrosion rates by electrochemical DC and AC methods." *Corros. Sci.*, **21**, 647.
- Mansfeld, F., Tsai, R., Shih, H., Little, B., Ray, R., Wagner, P. (1990). "Results of exposure of Sainless steels and titanium to natural seawater." *Corrosion'90*, Paper

No. 109, NACE, Houston, Tx.

- Marshall, K.C., Cruickshank, R.H. (1973). "Cell surface hydrophobicity and the orientation of certain bacteria at interfaces." *Arch. Mikrobiol.*, **91**, 29.
- Marshall, K.C. (1976). *Interfaces in Microbial Ecology*, Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Marshall, K.C. (1981). "Bacterial behaviour at solid surfaces, a prelude to microbial fouling", en "*Fouling of heat transfer equipment*", ed. E.F.C. Somerscales and J.G. Knudsen, Washington DC, Hemisphere Publications.
- Marszalek, D.S., Gerchakov, S.M., Udey, L.R. (1979). "Influence of substrate composition on marine microfouling". *Appl. and Environ. Microbiol.*, **11**, 987.
- Mele, M.F.L. de, Videla, H.A. (1981). "Estudio de la electrooxidación de la glucosa en soluciones buffer de fosfatos a pH 7,2." *Anales Asoc. Quim. Arg.*, **69**, 259.
- Mele, M.F.L. de, Videla, H.A., Arvia, J. (1982). "Potentiodynamic study of glucose electro-oxidation at bright platinum electrodes." *J. Electrochem. Soc.*, **129**, 2207.
- Mele, M.F.L. de, Videla, H.A., Arvia, J.A. (1986). "The influence of glucose and electrolyte composition in the voltametric response and open circuit potential decay of bright polycrystalline gold electrodes." *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **14**, 453.
- Mele, M.F.L., Gómez de Saravia, S.G., Videla, H.A., Brankevich, G.J. (1989). "Influencia de los cambios estacionales en la formación de biopelículas sobre sustratos metálicos expuestos a agua de mar y su relación con la corrosión de los mismos." en *Anales del 3er. Congreso Iberoamericano de Corrosión y Protección*, Río de Janeiro, p. 1544.
- Mollica, A., Trevis, A., Traverso, E., Ventura, G., De Carolis, G., Dellepiane, R. (1988). "Crevice corrosion resistance of stainless steel in natural seawater in the temperature range of 25 to 40 C, *Corrosion (NACE)*, **44**, 194.
- Mollica, A., Trevis, A., Traverso, E., Ventura, G., Decarolis, G., Dellepiane, R. (1989). "Cathodic performance of stainless steels in natural seawater as a function of microorganism settlement and temperature." *Corrosion (NACE)*, **45**, 48.

- Mollica, A., Traverso, E., Ventura, G. (1990). "Electrochemical monitoring of the biofilm growth on active passive alloy tubes of heat exchanger using seawater as cooling medium", en *Proc. 11th. Intl. Corrosion Congress*, Florence, Italy, **Vol. 4**, p. 241.
- Mollica, A. (1992). "Biofilms and corrosion of stainless steels and active-passive alloys in seawater", en *Anales del CIDEPINT 1992*, p. 215.
- Moosavi, A.N., Dawson, J.L., Houghton, C.J., King, R.A. 1986. "Effect of sulphate-reducing bacteria on corrosion of reinforced concrete." *Proc. Int. Conf. on Biologically Induced Corrosion*, NACE-8, p.291.
- Moreno, D.A, Mele, M.F.L.de, Ibars, J.R., Videla, H.A. (1991). "Influence of microstructure on the electrochemical behavior of type 410 SS in chloride media with inorganic and biogenic sulfide." *Corrosion (NACE)*, **47**, 2.
- Mukhopadhyay N., Baskaran, S. (1984). "Characterization of corrosion products on cupronickel 70:30 alloy in sulfide-polluted seawater." *Corrosion (NACE)*, **42**, 113.
- Muller, I.L., Galvele, J.R. (1977). "Pitting potential of high purity binary aluminum alloys. I Al-Cu alloys, pitting and intergranular corrosion." *Corrosion Science*, **17**, 179.
- Neihof, R.A. (1975). "Marine conditioning Films", en *Applied Chemistry at Protein Interfaces*. Adv. Chem. Ser. No 145 (Am. Chem. Soc., Washington D.C). p. 319
- North, R.F., Pryor, M.J.(1970). "The influence of corrosion products structure on the corrosion rate of Cu-Ni alloys." *Corrosion Science*, **10**, 297.
- Nguyen, T.H., Foley, R.T. (1980). "The chemical nature of aluminum corrosion. III. The dissolution of aluminum oxide and aluminum powder in various electrolytes," *J. Electrochem. Soc.*, **127**, 2563.
- Picologlou, B.F., Zelter, N., Characklis, W.G. (1980). "Biofilms growth and hydraulic performance." *J. Hydraul. Div. ASCE*. **106**, 733.
- Postgate, J.R. (1984) en *The sulfate-reducing bacteria*. 2nd edition, Cambridge,

England: Cambridge University Press.

- Rao, J.R., Richter, G. (1974). "Implantable Bio-Electrochemical Power Sources." *Naturwissenschaften*, **61**, 200, 1974.
- Rao, J.R., Richter, G., von Sturm, F., Weidlich, E., Wenzel, M. (1974). "Metal oxygen and glucose oxygen cells for implantable devices." *Biomed. Eng.*, **9**, 98.
- Rao, J.R., Richter, G.J., Luft, G. y von Sturm, F. (1978). "Development of an implantable electrocatalytic glucose sensor". *Trans. Amer. Soc. Artif Int. Organs*, **19**, 352.
- Richard, D.T. (1969). *Stockholm Contr. Geol.*, **20**, 67.
- Ridgway, H.F., Olson, B.H. (1981). "Scanning electron microscope evidence for bacterial colonization of a drinking-water distribution systems." *Applied and Environmental Microbiol.*, **41**, 274.
- Ringas C., Robinson, F.P.A. (1987). "Corrosion of stainless steel by sulfate-reducing bacteria. Electrochemical techniques." *Corrosion (NACE)*, **44**, 386.
- Ringas C., Robinson, F.P.A. (1988). "Corrosion of stainless steel by sulfate-reducing bacteria. Total immersion test results.", *Corrosion (NACE)*, **44**, 671.
- Salvarezza, R.C., Mele, M.F.L. de; Videla, H.A. (1981). "Redox potential and the microbiological corrosion of aluminium and its alloys in fuel/water systems." *Br. Corros. J.*, **16**, 162.
- Sato, N. (1982). "The stability of pitting dissolution of metals in aqueous solution," *J. Electrochem. Soc.* **129**, 260.
- Sawyer, P.N. (1978). "Application of electrochemical techniques to the solutions of problems in medicine." *J. Electrochem. Soc.*, **125**, 419.
- Scott, P.J.B.; Davies, M. (1989). "Microbiologically influenced corrosion of alloy 904L," *Materials Performance*, **28**, 57.
- Scotto, V., Di Cintio, R., Marcenaro, G. (1985). "The influence of marine microbial

film on stainless steel corrosion behavior." *Corrosion Sci*, **25**, 184.

- Scotto, V., Alabiso, G., Marcenaro, G. (1986) "An example of microbiologically influence corrosion." *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, **16**, 347.

- Scotto, V, Alabiso, A., Beggiato, M. Marcenaro, G., Guezennec, J. (1990). "Possible chemical and microbiological factors influencing stainless steel microbiologically influenced corrosion in natural seawater", en Proceedings of the 5th. European Congress on Biotechnology, Copenhagen, **2**, p. 866.

- Schaldach, M. (1969). "Bioelectric energy sources por cardiac pacing", en *Ann. N.Y. Acad. Sci.* p. 1016.

- Schriffin, D.J., Sanchez, R.S. de (1985). "The effect of pollutants and bacterial microfouling on the corrosion of copper base alloys in seawater." *Corrosion (NACE)*, **41**, 31.

- Siebert, O.W. (1986). "Application of the Rapid-Scan Potentiodynamic Polarization Technique for Corrosion Studies" en *Electrochemical Techniques for Corrosion Engineering*, ed. R. Baboian, NACE, Houston, Tx, p. 81.

- Stern, M., Geary, A.L. (1957). "Electrochemical polarization. 1- A theoretical analysis of the shape of polarization curves." *J. Electrochem. Soc.*, **104**, 33.

- Stoecker, J.G., Pope, D.H. (1986). "Study of biological corrosion in high temperature demineralized water," *Materials Performance*, **25**, 51.

- Stoner, G., Srinivasan, S. (1970). "Adsorption of blood proteins on metals using capacitance techniques" *J. Phys. Chem.*, **74**, 1088.

- Stuart Soeldner, J., Chang, K.W., Aisenberg, S., Hiebert, J. y Egdahl, R. (1976). "Diabetes Mellitus. A bioengineering aproach. An implantable glucose sensor, en *Diabetes Mellitus*, DHEW Publ. (NIH) U.S., p. 267.

- Syrett, B.C, Wing, S.S. (1978). "Pitting resistance of new and conventional orthopedic implant materials. Effect of metallurgical condition." *Corrosion (NACE)*, **34**, 138.

- Syrett, B.C. (1981). "The mechanism of accelerated corrosion of copper-nickel alloys in sulphide-polluted seawater." *Corros. Sci.*, **21**, 187.

- Szklarska-Smialowska, J. (1987), en *Pitting corrosion of metals*, NACE, Houston, Tx.

- Terry, L.A., Edyvean, R.G.J. (1981). "Microalgae and corrosion." *Botanica Marina*, **24**, 177.

- Terry, L.A., Edyvean, R.G.J. (1986). "Recent investigations on the effects of algae on corrosion", en *Algal Fouling*, (eds. L.V. Evans and K.D. Hoagland), p. 211.

- Tiller, A.K., Booth, G.H. (1968). "Anaerobic corrosion of aluminium by sulfate-reducing bacteria." *Corros. Sci.*, **8**, 549.

- Tiller, A.K. (1983). "Electrochemical aspects of microbial corrosion overview" en *Microbial Corrosion*, London, The Metals Society, p. 54.

- Tiller, A.K. (1986). "A review of the European research effort on microbial corrosion between 1950 and 1984." *Proc. Int. Conf. on Biologically Induced Corrosion*", NACE-8, p.8.

- Trulear, M.G. (1982). "Dynamics of biofilm processes in an annular reactor". Master of Science thesis, Rice University, Houston, TX, 1980.

- Trulear, M.G, Characklis, W.G. (1982). "Dynamics of biofilms processes." *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, **54**, 1288.

- Trulear, M.G. (1983). "Cellular reproduction and extracellular polymer formation in the development of biofilms". Doctoral thesis, Montana State University, Bozeman, MT.

- Turakhia, M.H., Characklis, W.G.(1984). "Fouling of heatexchange surfaces." *J. Wat. Poll. Contr. Fed.*, **54**, 1288.

- Uruchurtu, J.C., Dawson, J.L. (1987). "Noise analysis of pure aluminum under different pitting conditions.", *Corrosion (NACE)*, **43**, 19.

- Vaidyanathan, T.K., Prasad, A. (1978). "Corrosion and tarnish properties of commercial dental alloys", en Microfilmed paper No. 497 delivered at the *Annual Meeting of the American Association for Dental Research, Dental Materials Group*.
- Vakhidov, R.S., Bakirov, M.N. (1975). "Adsorption of phosphate ions at solid electrodes, *Electrokhimiya*, **11**, 282.
- Vázquez Moll, V., Salvarezza, R.C, Videla, H.A, Arvia, A.J. (1984). "Localized corrosion of mild steel in base solutions containing sodium sulfide. Influence of pH and sodium acetate addition." *Corrosion (NACE)*, **40**, 414.
- Videla, H.A., Characklis, W.G. (1992). "Biofouling and MIC: A bioelectrochemical and process analysis approach", en *Proc. of the 1st. Panamerican Corrosion and Protection Congress*, ed. V. Rascio, Vol. 2, p.399.
- Videla, H.A. (1986). "Corrosión microbiológica: Retrospectiva histórica y perspectiva futura." *Rev. Iber. Corros. y Prot.*, **17**, 331.
- Videla, H.A., Guimet, P.S.; Dovalle, S.M., Reinoso, E.H.(1988). "Effects of fungal and bacterial contaminants of kerosene fuels on the corrosion of storage and distribution systems", *Corrosion'88*, paper No 91, Houston, TX.
- Von Wolzogen Kuhr, G.A.H., Van der Vlugt, L.R. (1934). "De grafiteering van gietijzer als electrobiochemisch process in anaerobe gronden." *Water*, **18**, 147 (traducción en *Corrosion (NACE)*, **17**, 293, 1961).
- Wangersky, P.J. (1976). *Annals Reviews Ecology Systems* **7**, 161.
- Wanklin, J.N. and Spruit, C.I.P. (1952). "Influence of sulphate-reducing bacteria on the corrosion potential of iron." *Nature*, London, **169**, 928.
- Westlake, D.W., Semple, K.M. and Obuekwe, C.O. (1986). "Corrosion by ferric iron reducing bacterial isolated from oil production systems", en *Biologically Induced Corrosion*, (ed. S.C. Dexter), NACE-8 International Corrosion Conference Series, Houston, Tx, p. 195.
- Weidlich, E., Richter, G., von Sturm, F, Rao, J.R., Thorén, A., Llargergren, H.(1976). "Animal experiments with biogalvanic and biofuel cells." *Biomat. Med.*

Dev. Art. Org., **4**, 277.

- Wilderer, P.A., Characklis, W.G. (1988). *Structure and Function of Biofilms*, eds. W.G. Characklis and P.A. Wilderer, John Wiley & Sons Ltd, p.5.

- Wolfson, S.L., Hartt, W.H.(1981). "An initial investigation of calcareous deposits upon cathodic steel surfaces in seawater," *Corrosion (NACE)*, **37**, 70.

- Wolfson, S.K.Jr., Gofberg, S.L., Prusiner, P., Nanis, L. (1968). "The bioautofuelcell: A device for pacemaker power from direct energy conversion consuming autogeneous fuel." *Trans. Amer. Artif. Int. Organs* **14**, 198.

- Zamanzadeh, M.; O'Connor, K; Bavarian, B. (1989). "Case histories of corrosion problems in waste-water facilities. *Materials Performance*, **28**, 43.

- Zilver, N. (1979). "Biofilm Development and associated energy losses in water conduits", M.S. thesis, Rice University, Houston, TX.

- Zilver, N., Roe, F.L., Characklis, W.G. (1985). "Potential for monitoring fouling in the food industry" en *Fouling and Cleaning in the Food Industry*, eds. D. Lund, E. Plett, C. Sandu, Department of Food Science, University of Wisconsin, Madison, WI.

- Zhang, X, Buchanan, R.A., Stansbury, E.E., Dowling, N.J.E. (1989). "Electrochemical responses of structural materials to microbiologically induced corrosion." *Corrosion'89*, Paper No. 512.

- Zielke, D.R., Brady, J.M. and del Rio, C.E. (1975). "Corrosion of silver cones in bone: A scanning microscope and microprobe analysis." *J. Endod.*, **1**, 356.

7. ABREVIATURAS UTILIZADAS

AISI: American Institute of Stainless Iron

BRS: bacterias reductoras de sulfatos

E: potencial

ECS: electrodo de calomel saturado

EDXA: Análisis por difracción de rayos X

i: densidad de corriente

I: corriente

MEB: microscopio/microscopía electrónico/a de barrido

MPE: material polimérico extracelular

PC: protección catódica

PCA: potencial a circuito abierto

t: tiempo

TEQ: técnica electroquímica

