

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA**

FACULTAD DE INGENIERIA QUIMICA

Y MANUFACTURERA



" ESTUDIO Y EVALUACION DE BIOCIDAS A BASE DE  
GLUTARALDEHIDO PARA SISTEMAS DE AGUA DE ENFRIAMIENTO"

Tesis para obtener el Título Profesional de

**INGENIERO QUIMICO**

CIANINE LIBERTAD PEZO SANCHEZ

JOE JOHNY PEZO SANCHEZ

Promoción 94-I

Lima - Perú

1997

# INDICE

INTRODUCCIÓN	<u>Pág.</u> 9
RESUMEN	11

## CAPITULO I

1.1 Problemas de Ensuciamiento Biológico en la Industria	13
1.2 Aspectos Básicos en Microbiología	16
1.2.1 La Célula	17
1.2.2 Diferenciación entre células eucarióticas y células procarióticas	17
1.2.3 Estructura Celular Bacteriana	20
1.2.4 Metabolismo Bacteriano	20
1.2.5 Necesidad de Nutrientes	22
1.2.6 Crecimiento Microbiano	23
1.3 Tipos de Microorganismos	26
1.3.1 Clasificación de los Microorganismos	26
1.3.2 Grupos de Microorganismos presentes en los procesos de corrosión y bioensuciamiento	27
1.4 Microorganismos que inducen procesos de Corrosión y Bioensuciamiento	32
1.4.1 Bacterias Formadoras de Biopelículas	32
1.4.2 Bacterias que Inducen Procesos Corrosivos	34
1.4.3 Algas	42
1.4.4 Hongos	46
1.5 Bacterias Sulfatorreductoras	47
1.5.1 Genero Desulfovibrio	47
1.5.2 Ecología y Geomicrobiología de las bacterias sulfatorreductoras	50
1.5.3 Metabolismo	52
1.5.4 Pruebas para su determinación	53
1.5.4.1 Métodos de cultivo	54
1.5.4.2 Métodos Directos	56

1.5.4.3 Comparación de los Métodos	57
1.5.5 Control	58
1.6 Interacción entre los microorganismos y la superficie metálica	61
1.6.1 Propiedades Características de las Bacterias	61
1.6.2 Adherencia Bacteriana y Bioensuciamiento	62
1.6.3 Corrosión Microbiológica	68
1.6.3.1 Desarrollo Histórico	70
1.6.3.2 Factores que influyen en la Corrosión Microbiológica	71
1.6.4 Mecanismo de la Corrosión Microbiológica	74
1.6.4.1 Corrosión del Hierro y Aleaciones	74
1.6.4.2 Corrosión de Metales No Ferrosos	85
1.6.5 Programas de Monitoreo para la Biocorrosión y Bioensuciamiento	86
1.6.5.1 Corrosión y Bioensuciamiento en ambientes industriales	86
1.6.5.2 Métodos de Prevención y Protección	88
1.6.5.3 Características de los Programas Actuales de Monitoreo para la Biocorrosión y Bioensuciamiento	89
1.6.5.4 Instrumentación Aplicada en el Monitoreo de la Biocorrosión y Bioensuciamiento	91
1.6.5.5 Control de la Biocorrosión y Bioensuciamiento	93
1.7 Problemas en los Sistemas de Enfriamiento	95
1.7.1 Generalidades	95
1.7.2 Tipos de Sistemas de Enfriamiento	95
1.7.2.1 Sistemas de un solo paso	95
1.7.2.2 Sistemas de Recirculación Cerrada	96
1.7.2.3 Sistemas de Recirculación Abierta	96
1.7.3 Torres de Enfriamiento	97
1.7.3.1 Definiciones	97
1.7.4 Problemas Típicos en Sistemas de Enfriamiento	102
1.7.4.1 Control de Incrustaciones	102
1.7.4.2 Control de Ensuciamiento	104
1.7.4.3 Control de Corrosión	107
1.7.4.4 Control Microbiológico	113

## **CAPITULO II**

2.1 Biocidas	118
2.1.1 Definición	118
2.1.2 Resumen Histórico	118
2.1.3 Clasificación de los Biocidas	120
2.1.3.1 Por su grado de Oxidación	120
2.1.3.2 Por su naturaleza química	121
2.1.4 Aplicación y Dosificación de los Biocidas	121
2.1.5 Mecanismos de Acción	122
2.1.6 Mecanismos de Neutralización Bacterial contra el Efecto de los Biocidas	123
2.1.7 Factores para seleccionar biocidas	124
2.2 Biocidas para sistemas de agua de enfriamiento	125
2.2.1 Compuestos Activos de Biocidas Comerciales	125
2.2.2 Biocidas a partir de Glutaraldehído como ingrediente activo	131
2.2.2.1 Resumen Histórico	132
2.2.2.2 Mecanismo de Acción Biológica y Química	132
2.2.2.3 La Molécula de Glutaraldehído	133
2.2.2.4 Reactividad Química del Glutaraldehído	135

## **CAPITULO III**

3.1 Procedimiento Experimental	142
3.1.1 Descripción del Sistema de Recirculación	142
3.1.2 Diseño de experimentos	145
3.1.3 Descripción de las Pruebas	146
3.1.4 Secuencia Experimental	150
3.2 Cálculos a partir de los datos obtenidos	156
3.2.1 Pérdida de Biopelícula	156
3.2.2 Velocidad de Corrosión	156
3.2.3 Determinación de la Eficacia del Biocida	158

## CAPITULO IV

4.1 Resultados	160
4.1.1 Selección del Biocida	160
4.1.1.1 Concentración Mínima Letal	160
4.1.1.2 Tiempo Mínimo Letal	160
4.1.2 Disminución de la Población Bacteriana	165
4.1.2.1 Periodo de Incubación y Crecimiento Bacterial	165
4.1.2.2 Corridas Experimentales	165
4.1.3 Remoción de Biomasa	168
4.1.4 Velocidad de Corrosión	171
4.1.5 Actividad del Glutaraldehído en función del pH	175
4.1.5.1 Concentración vs. PH	175
4.1.5.2 pH vs Tiempo de Exterminio	175
4.2 Discusión de Resultados	178
4.2.1 Selección del Biocida	178
4.2.2 Disminución de la Población Bacteriana	179
4.2.3 Remoción de Biomasa	180
4.2.4 Velocidad de Corrosión	181
4.2.5 Actividad del Glutaraldehído en función del pH	184

## CAPITULO V

5.1 Evaluación Económica	186
5.1.1 Cálculos Previos	186
5.1.2 Evaluación de Alternativas	188

## CAPITULO VI

6.1 Conclusiones	191
6.2 Recomendaciones	193
BIBLIOGRAFÍA	195

## ANEXOS

### Anexo 1

Diseño y Construcción del Circuito Piloto de Recirculación Abierta

### Anexo 2

A. Detalle de la Disposición del Circuito de Recirculación ( Diagrama y fotografía)

B. Detalle de la Sección de Caída de Presión

C. Detalle de las Secciones de Muestreo de Biopelículas y Recuento Bacterial

D. Detalle de la Sección de Cupones de Corrosión

### Anexo 3

A. Recuento Bacterial por el Método del Número Más Probable

B. Determinación del NMP para Bacterias Sulfato Reductoras

C. Densidad Bacterial por el Método de Recuento en Placa

D. Aplicación del Método del Recuento en Placa para Bacterias Formadoras de Slime

E. Inóculos con Carga Bacterial aplicados al Sistema de Recirculación

### Anexo 4

A. Determinación del Consumo de Glucosa

B. Caldo Tioglicolato

### Anexo 5

A. Método para determinar Sólidos Suspendedos

B. Método para determinar el Peso de Biopelícula Seca

### Anexo 6

A. Determinación de la Velocidad de Corrosión por el Método Gravimétrico

B. Resultados de la Determinación Gravimétrica de la Velocidad de Corrosión

### Anexo 7

Eficacia Biocida del Glutaraldehído

### Anexo 8

A. Características Técnicas de la Bomba

B. Características Técnicas del Sistema Monitor de Glucosa

C. Hoja de Datos de Seguridad e Higiene del Glutaraldehído

## Introducción

La célula bacteriana es, esencialmente, una máquina sintética capaz de duplicarse así misma. Los procesos de síntesis para el desarrollo de una célula bacteriana incluyen hasta 2000 reacciones químicas de una amplia variedad de tipos. Algunas reacciones incluyen transformaciones de energía, otras incluyen la biosíntesis de moléculas pequeñas. Las reacciones principales de la síntesis en la célula son las reacciones de polimerización, procesos mediante los cuales se fabrican los polímeros (macromoléculas) a partir de los monómeros. Una vez fabricados los polímeros se produce el ensamblaje de las macromoléculas y, finalmente, la formación de estructuras celulares.

El efecto de esta última etapa sobre las superficies metálicas unido con las condiciones dinámicas (velocidad de flujo), va originar la formación de películas biológicas, siendo nuestro interés particular las consecuencias de la actividad metabólica de las bacterias que causan procesos de bioensuciamiento en sistemas de agua de enfriamiento de recirculación abierta.

Entre estas consecuencias podemos mencionar : la reducción de la transferencia de calor, el aumento a la resistencia al flujo, y la corrosión microbiológica, ocasionando pérdidas costosas en el mantenimiento de las líneas, intercambiadores de calor y torres de enfriamiento.

Para solucionar el problema se requiere efectuar un control de la población bacteriana del sistema aplicando productos químicos de acción letal conocidos como biocidas. Existen numerosos biocidas dentro del mercado, sin embargo no todos tienen un amplio espectro de acción, y muchos de ellos con el inconveniente de estar prohibidos como desecho industrial.

En este trabajo se estudiará el efecto del Glutaraldehído sobre la población bacteriana, y se explicará porque tiene un poder letal elevado que lo hace tan atractivo en el control microbiológico.

Se abordará tres aspectos básicos que participan activamente : el metal, el medio y el ente biológico. Sin embargo advertimos que para poder comprender a cabalidad el fenómeno, hace falta estudios más específicos del mecanismo de crecimiento biológico, la cinética de microorganismo individuales, y las interacciones de los microorganismos y la superficie metálica.

Desde aquí lanzamos el reto para que futuros egresados investiguen más el área de la microbiología aplicada en el área de la ingeniería , permitiendo encontrar otras herramientas en la solución de problemas de las industrias : alimentaria, papelera, petrolera, petroquímica, naviera, aeronáutica, plantas de tratamiento de agua, entre otras



## Resumen

La formación de depósitos microbiológicos en superficies de sistemas de enfriamiento de agua industrial puede originar una variedad de problemas que afectarán

- 1) La eficiencia del nivel de transferencia térmica
- 2) La resistencia al flujo hidrodinámico
- 3) La estructura de los materiales del sistema

Normalmente en los programas de tratamiento químico de los sistemas de enfriamiento, se adicionan sustancias como: inhibidores de corrosión, anti-incrustantes, dispersantes, etc. La disminución del problema del ensuciamiento por microorganismos se trata con el uso de Biocidas y existe actualmente una amplia gama que son seleccionados y aplicados de acuerdo a las condiciones de operación y nivel de contaminación del sistema.

Diversos factores influyen en el mecanismo de acción de los Biocidas como : el pH, la temperatura, y la presencia de contaminantes. Existen diferentes clasificaciones de los Biocidas como por ejemplo los de naturaleza inorgánica y orgánica, o los de naturaleza oxidante o no oxidante. Así tenemos sustancias como el Gas Cloro, Hipoclorito de Sodio, Hipoclorito de Calcio, Sales Orgánicas de Arsénico, Acroleína, Formaldehído, etc.

Sin embargo muchas de estas sustancias actualmente están prohibidas desde 1970 en Estados Unidos a raíz de la mayor preocupación ambiental incrementando los requerimientos legales en cuanto a la toxicidad de los productos. Así el Glutaraldehído se convierte en uno de los productos mas atractivos para combatir y controlar la contaminación microbiana por la facilidad que presenta para desactivarlo como ingrediente activo y eliminarlo como desecho. Asimismo es uno de los biocidas mas efectivos, para la eliminación de las Bacterias Sulfato Reductoras (BSR) , debido a la estructura química característica de este producto.

Los objetivos de esta tesis son

- A).- Evaluar la eficiencia del Glutaraldehído para :

- 1.- Eliminar la contaminación microbiana
- 2.- Reducir el Bioensuciamiento
- 3.- Controlar la Corrosión Microbiológica

B).- Estudiar los factores que contribuyan o favorezcan a:

- 1.- La contaminación microbiana
- 2.- La formación de Bioensuciamiento
- 3.- El ataque corrosivo de las BSR sobre el acero al carbono
- 4.- El control de la contaminación microbiológica, el bioensuciamiento y la corrosión microbiológica.

Este estudio permitirá analizar las ventajas del uso de este tipo de biocidas , así como su eficacia para controlar y eliminar las bacterias perjudiciales promotoras del bioensuciamiento y procesos corrosivos. Se explicará porque el Glutaraldehído como ingrediente activo tiene una gran aplicabilidad para la eliminación de microorganismos principalmente la Bacteria Sulfato Reductora que es la bacteria promotora más conocida de la corrosión.

Para ello se utilizará un equipo que simule un sistema de recirculación alcanzando velocidades que se dan en la industria, se creará el ambiente necesario para que las bacterias se reproduzcan con facilidad y se formen películas biológicas sobre las superficies del sistema, una vez establecidas y los problemas potenciales empiecen a ser detectables se procederá a realizar el monitoreo de diferentes variables : recuento microbiológico, sólidos suspendidos, pérdida de biopelículas, caída de presión, consumo de nutrientes, velocidad de corrosión ,entre otros.

La aplicación de técnicas microbiológicas como aislamiento, cultivo y recuento bacterial, serán de gran utilidad en las experiencias.

Esta tesis permitirá comprender que la implementación de medidas preventivas y de control de los procesos de biodeterioro exige un adecuado conocimiento de los efectos debido a los microorganismos y sus biopelículas en el proceso de ensuciamiento y corrosión, y este otro es de los objetivos intrínsecos de este trabajo.

# CAPITULO I

## 1.1 Problemas de Ensuciamiento Biológico en la Industria

El ensuciamiento biológico y los procesos asociados de corrosión inducida microbiológicamente, son producto de procesos biológicos y electroquímicos producidos por microorganismos adheridos a superficies metálicas bajo la forma de películas biológicas. Estas películas producen importantes modificaciones, alterando las condiciones físico-químicas en la interfase metal/solución, formando barreras al intercambio de elementos entre la superficie metálica y el medio líquido circundante <sup>(33)</sup>

Entre las consecuencias negativas pueden mencionarse una disminución de la performance de los equipos y una menor durabilidad de los materiales estructurales. Así los sistemas de agua de enfriamiento con recirculación constituyen un buen ejemplo de un ambiente industrial donde los riesgos de corrosión y bioensuciamiento son particularmente críticos y necesitan estar mantenidos bajo control.

La corrosión microbiológica de cañerías bajo tierra causó pérdidas económicas durante 1954 en Estados Unidos estimadas entre US\$ 500 y 2000 millones por año.

En Gran Bretaña, Vernon estimó durante 1956 los gastos ocasionados por estos procesos en el orden de los 20 millones de libras esterlinas.

Booth considera, a su vez, que el 50% de los casos de corrosión en las redes de cañerías enterradas se deben a causas microbiológicas.

A veces el microorganismo es el causante indirecto del proceso corrosivo, como sucede en la oxidación de la Pirita por los Ferrobacilos, estimándose en un millón de toneladas de ácido sulfúrico que se arrojan por esa causa anualmente al río Ohio en Estados Unidos. Esto ocasiona enormes pérdidas en cañerías y sistemas de bombeo de las minas <sup>(34)</sup>

En sistemas de enfriamiento e intercambiadores, la biopelícula reduce la transferencia de calor incrementando por lo tanto el costo energético ; Atwood ha proyectado ahorros de mas de US\$ 100 millones anuales si la caída de presión puede ser reducida en 0.1 pulgadas de Hg ( 0.05 PSI aproximadamente ).

En las embarcaciones son de gran importancia los daños ocasionados por la asociación de las bacterias reductoras de sulfatos a los procesos de fouling.

Con respecto a cañerías de hierro enterradas, Booth cita casos de perforaciones de 0.6-0.7 cm. de espesor en cañerías de hierro fundido, producidas en sólo cuatro años.

Es frecuente encontrar bacterias reductoras de sulfatos en procesos de corrosión que afectan a cañerías de circuitos de refrigeración.

El Oleoducto Nor-Peruano entró en funcionamiento en 1976. Los gastos de mantenimiento dedicados a subsanar fallas de corrosión son significativas, lo que motivó que desde 1983 se inicie un programa de tratamiento biocida, se obtuvo evidencias de que muchas de las fallas de corrosión interna eran producidas como consecuencia de la acción metabólica de las Bacterias Sulfato Reductoras, para ese entonces ya habían sido intervenidos por fallas 6 tanques de lavado, 5 tanques de sedimentación y un tanque de almacenamiento; reparar un tanque de lavado costaba US\$ 12000 sin considerar los problemas operativos de poner fuera de servicio el tanque <sup>(32)</sup>

Además de los numerosos casos de corrosión por microorganismos que afectan a la industria aeronáutica por causa de los contaminantes microbianos de combustibles de jet, se informaron severos casos de corrosión en navíos que utilizan combustibles similares a los "jet-fuels" (combustible diesel naval).

Si bien los casos más frecuentes de corrosión por microorganismos se refieren a las estructuras de hierro o acero, se comprobaron casos de corrosión por microorganismos para el cobre, aluminio, y aleaciones, cinc, plomo y materiales no metálicos (concreto, gomas y plásticos).

Los costos de los procesos de bioensuciamiento y corrosión microbiológica para la actividad productiva puede estimarse aproximadamente dentro del 0.5% del PBI de

un país medianamente industrializado, afectando a actividades diversas como las desarrolladas en las industrias energética, alimentaria, petrolera, de papel, entre las más relevantes.

La implementación de medidas preventivas y de control de los procesos de biodeterioro exige un adecuado conocimiento de los efectos debidos a los microorganismos y sus biopelículas en el proceso de corrosión y exige una adecuada complementación de disciplinas diversas como la microbiología, electroquímica, la metalurgia y la ingeniería química.

## 1.2 Aspectos Básicos en Microbiología

Los microorganismos constituyen uno de los tres componentes del sistema BIOTA / METAL / SOLUCIÓN, que interaccionan produciendo los fenómenos de bioensuciamiento (biofouling) y corrosión. Debido al importante papel que desempeñan en estos fenómenos, debemos primero conocer sus características fundamentales. Los microorganismos se encuentran en todas partes de la naturaleza, distribuyéndose en el aire, agua o suelo y afectando de manera diversa la vida del hombre y animales, además de distintos procesos industriales <sup>(34)</sup>.

La naturaleza del microorganismo en particular y las características de su crecimiento y metabolismo determinará el carácter perjudicial o beneficioso de su influencia en determinado sistema o proceso industrial. Como ejemplo del primer caso podemos mencionar la presencia de bacterias oxidantes del hierro en el agua de enfriamiento de sistemas refrigerantes, cuya actividad metabólica lleva a la formación de depósitos y tubérculos en los conductos, originando taponamiento de filtros y tuberías así como corrosión. Como ejemplo de acción favorable tenemos a las bacterias utilizadas en tratamiento de aguas residuales, que producen depósitos de polisacáridos que ayudan a otras bacterias a digerir materia orgánica, evitando así la polución que esa materia causaría al descargarla en un curso de agua.

Antes de abordar el estudio de estas bacterias es oportuno hacer un breve repaso de algunas generalidades relacionadas con la morfología y con el metabolismo celulares. Hasta el año 1830, aproximadamente, se tenía por costumbre dividir el mundo viviente en dos reinos : el reino animal y el reino vegetal. Con el desarrollo de la microscopía y, asimismo gracias al estudio más profundo del mundo de los microbios , se descubrió que numerosos grupos de microorganismos, de hecho, podrían permanecer a uno u otro reino. Esta es la razón por la cual en 1866 , un discípulo de Darwin , Haeckel , propuso una solución lógica a este problema <sup>(7)</sup>.

Creando un tercer reino, el de los **PROTISTAS**, que incluía los hongos, las algas, los protozoarios y a las bacterias.

Los PROTISTAS se distinguen del resto de seres vivos gracias a su organización biológica, que es relativamente simple, y se tiene por costumbre dividirlos en grupos diferentes

- **Los Protistas Superiores** que agrupan a las algas, los protozoarios y los hongos, cuyo elemento básico es la **célula Eucariótica**.
- **Los Protistas Inferiores** que agrupan a las algas azules y a las bacterias que presentan como unidad estructural a la **célula Procariótica**.

### 1.2.1 La Célula

La célula es una unidad biológica . El ser vivo puede estar constituido por una célula, por varias o por número incalculable de estas unidades básicas que, en forma aislada o por grupos, desempeñan funciones diferentes y específicas.

De manera general una célula esta formada por un citoplasma en la que se mantiene inmerso el núcleo. El núcleo y el citoplasma están limitados por una membrana que separa del mundo exterior el conjunto que forman.

### 1.2.2 Diferenciación entre células eucarióticas y células procarióticas

#### A).- La Célula Eucariótica

Este tipo de célula constituye el elemento básico de plantas y animales superiores y de los protistas también superiores (algas, hongos y protozoarios).

El núcleo esta separado del protoplasma por una membrana porosa y el código genético lo determinan los cromosomas. La división celular es del tipo mitótico. El citoplasma siempre contiene plastos, inclusiones con función propia, mitocondrias y cloroplastos que aseguran la fotosíntesis.

#### B).- La Célula Procariótica

Los hechos que caracterizan a esta especie de célula (algas azul verdosas, bacterias) corresponden a dos ordenes diferentes

- **Desde el punto de vista Nuclear**

La célula procariótica no presenta ninguna membrana alrededor del núcleo. Esta afirmación fue difícil de sostener mientras sólo se dispuso del microscopio óptico pero con el desarrollo de las técnicas de la microscopía electrónica se observa ahora que el núcleo de tales células no es en realidad sino un apilamiento de fibrillas , al parecer formadas en su mayor parte de ADN.

Ese conjunto de fibrillas no mostró en ningún caso una organización cromosómica caracterizada.

De hecho, el núcleo de la bacteria está formado por una banda de ADN, circular y entrecruzada, que contiene el material genético.

Al contrario de la célula eucariótica, la división celular de las células procarióticas es amitótica ( nunca se realiza por mitosis ).

Al parecer el conjunto de fibrillas se divide en dos, aunque el mecanismo de repartición del material genético por partes iguales entre las células hijas actualmente no es completamente conocido.

Es preciso aceptar, sin embargo, que el material hereditario se conserva con una gran estabilidad a pesar de que con frecuencia se produzca mutaciones accidentales.

- **Desde el punto de vista Citoplásmico**

La célula procariótica se comporta de una manera diferente de la célula eucariótica

Existen dos puntos que es preciso recordar: que el citoplasma de esta célula no contiene jamás inclusiones del tipo de los plastos y , asimismo que el citoplasma carece de movimiento.

A pesar de esa ausencia de inclusiones es necesario reconocer que la respiración celular y la fotosíntesis están del todo aseguradas.

Además de todo lo ya dicho con respecto a ciertos elementos estructurales, los protistas inferiores que aquí se tratan pueden ser :

- Quimilitótrofos o
- Quimioorganótrofos



Anteriormente se tenía la costumbre de dividir los organismos vivos en dos grupos , con base a sus funciones nutritivas : Los organismos "Autótrofos", como las plantas que no utilizan más que sales minerales para asegurar su desarrollo , y los organismos llamados "Heterótrofos", como los animales, para los cuales los compuestos orgánicos son necesarios. La separación que existía entre dos grupos resultó difícil de mantener cuando los biólogos se percataron que habían muchos otros factores necesarios para el desarrollo de los organismos, tanto en el terreno de los elementos para el crecimiento, como en el de las fuentes de energía

Actualmente se distinguen cuatro grupos

#### **- Los Organismos Fotolitótrofos**

Que utilizan sustancias inorgánicas oxidables (minerales) como donadores de electrones con ayuda de energía radiante. Este es el caso de las plantas verdes, de las sulfobacterias verdes y púrpuras, así como también de las algas azules. Así estos organismos son " autótrofos ".

#### **- Los Organismos Fotoorgánotrofos**

Que utilizan substratos orgánicos oxidables como donadores de electrones con ayuda de energía radiante. Así pues son "heterótrofos".

#### **- Los Organismos Quimiolitótrofos**

Que obtienen su energía de reacciones de oxidoreducción y utilizan substratos inorgánicos como donadores de electrones. Este es el caso de las bacterias sulfooxidantes, de las nitrificantes y de las ferrobacterias. En su gran mayoría se trata de bacterias autótrofas y utilizan el gas carbónico como única fuente para la obtención de carbón.

#### **- Los Organismos Quimioorgánotrofos**

Que obtienen su energía a partir de fenómenos de oxidorreducción. Utilizan substratos orgánicos como donadores de electrones. Se trata pues de organismos "heterótrofos".

### 1.2.3 Estructura Celular Bacteriana

Las estructuras celulares de los seres vivos son semejantes: todas tienen una pared celular rígida y flexible. En este caso se describe la estructura de la célula de una bacteria y representa en **la figura 1.2.1**. En la célula se distinguen los siguientes rasgos estructurales: **La pared celular de material rígido o membrana**, protege a la célula de daños por acción mecánica u osmótica; la membrana del citoplasma es una membrana flexible que actúa como una barrera selectiva entre el contenido de la célula y el medio que la rodea, es semipermeable y por allí entran y salen materiales de la célula. En algunas bacterias la célula está rodeada por una capa externa llamada cápsula.

Dentro de la célula se pueden distinguir dos zonas diferentes: El citoplasma y el núcleo.

**La zona del núcleo** contiene el ADN (Ácido desoxirribonucleico), el cual retiene la información genética de la célula. Su composición determina cuáles enzimas pueden sintetizar, sus concentraciones son reguladas por mecanismos de retroalimentación; en el proceso de división de la célula, el material nuclear se divide o replica en las células.

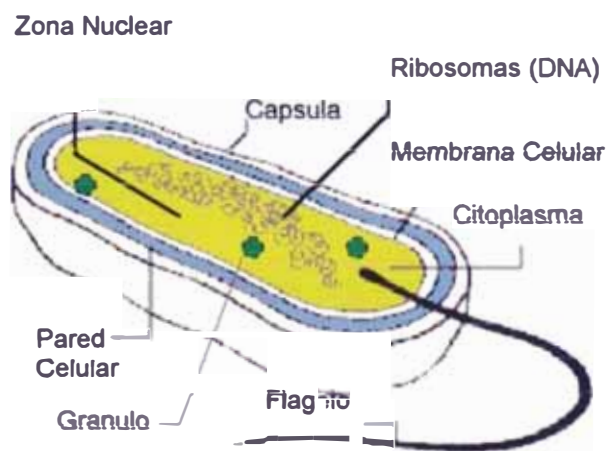
**En el citoplasma** hay partículas pequeñas llamadas Ribosomas que contienen el ARN (Ácido Ribonucleico) el cual tiene por efecto la elaboración de las principales funciones de la célula, y son el sitio donde se sintetizan las enzimas. Hay enzimas extracelulares que se encargan de desdoblar moléculas más grandes y las partículas en compuestos simples, que pueden ser absorbidas por las células, y enzimas intracelulares, responsables principalmente de las transformaciones conducentes a la síntesis de material celular.

Algunas células bacterianas tienen un flagelo que utilizan para la locomoción o para desplazarse en el medio líquido.

### 1.2.4 Metabolismo Bacteriano

Las bacterias necesitan alimento para obtener energía y para sintetizar nuevas células.

Los elementos alimentarios esenciales son los que se encuentran en las células e incluyen: Hidrógeno ( $H_2$ ), Oxígeno ( $O_2$ ), Carbono (C), Nitrógeno (N), Fósforo



**Figura 1.2.1 Esquema de una Célula Bacteriana**

El esquema de la célula bacteriana responde a las características de las células procarióticas. Puede verse básicamente una zona nuclear que aparece como una red indefinida que continua con el citoplasma, faltando la membrana nuclear que caracteriza a las células eucarióticas. Los elementos de locomoción (flagelos), cuando están presentes, se componen de una sola fibrilla o de un manojito de fibrillas. La pared celular tiene como sustancia básica un glucopéptido denominado mureína. En el interior del núcleo alberga un cromosoma único circular y filiforme con doble cadena de ADN. Los gránulos de almacenamiento o inclusiones granulares pueden alcanzar hasta el 50% del peso seco y están constituidas por glucógeno o almidón (polímero de sacarosa), lípidos neutros, polifosfatos y azufre.

(P), principalmente, y cantidades muy pequeñas de Potasio (K), Sodio (Na), Magnesio (Mg), Manganeseo (Mn), Calcio (Ca) y Hierro (Fe). El carbono es el elemento más abundante en la célula y se puede obtener de la materia orgánica o de dióxido de carbono, según el tipo de organismo,

Todas las reacciones bioquímicas del organismo en las cuales se utiliza alimento, producen energía, y el organismo crece y se multiplica, constituyen el metabolismo, independientemente si el medio es aerobio o anaerobio (con o sin oxígeno) y de si la fuente de alimento es orgánica o inorgánica.

La temperatura determina la velocidad a la cual la célula realiza sus funciones vitales, un aumento de la temperatura acelera el funcionamiento celular y la reducción de la misma lo retarda. La temperatura del medio circundante no transmite energía a la célula, esta energía se debe producir dentro de ella.

El metabolismo comprende dos tipos de reacciones y etapas simultáneas:

#### **a) Degradación. Desasimilación o Catabolismo**

En el cual tienen lugar las reacciones de oxidación-reducción que liberan energía.

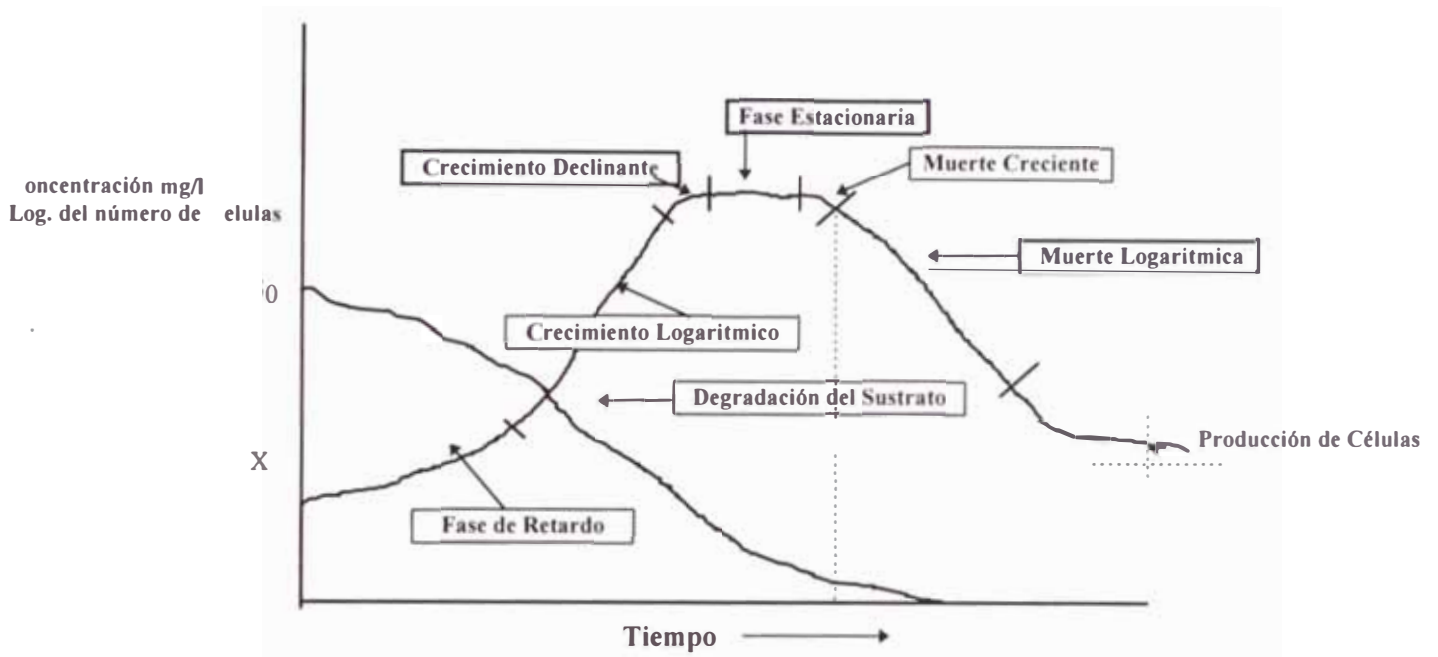
#### **b) Asimilación, Síntesis o Anabolismo**

Son las reacciones que utilizan la energía producida en el catabolismo para sintetizar nuevo material celular.

### **1.2.5 Necesidad de Nutrientes**

En la descripción de metabolismo bacteriano se mencionó la necesidad de micronutrientes y de nitrógeno y fósforo; estos dos nutrientes son complementos esenciales del carbón, hidrógeno, oxígeno en el metabolismo celular. La carencia de ambos o de uno de ellos limita el crecimiento y la actividad y, de la misma manera, su abundancia puede favorecer el crecimiento incontrolado de unas especies a costa de otras.

En general, las relaciones de demanda biológica de  $O_2$  : N : P son de 100 : 6,5 : 1,5 en medio aerobio y 100 : 11 : 2 en medio anaerobio, permitiendo una actividad microbiológica dinámica. Cantidades menores de nitrógeno y o fósforo limitan el crecimiento, y cantidades mayores producen crecimientos masivos, principalmente de algas.



**Figura 1.2.2 Curva de Crecimiento Microbiano en función del tiempo**

El período o *fase de retardo* (fase lag) representa el tiempo de adaptación que necesitan las células del inóculo, para iniciar su crecimiento en el nuevo medio. Si el inóculo está constituido por células de crecimiento rápido ( en un medio similar al inoculado), esta fase será casi imperceptible . Durante la fase exponencial (fase log ) o de crecimiento logarítmico, las células crecen a una velocidad constante ( el tiempo de generación o tiempo entre divisiones es constante). En un microorganismo unicelular el resultado de este tipo de crecimiento debe ser un incremento exponencial de la masa y del número de células. Este crecimiento hace que una bacteria tipo de un volumen de  $1 \mu\text{m}^3$  y tiempo de generación de 20 minutos, después de  $3 \frac{1}{2}$  horas el aumento en el número de células sea del orden de 1.024, por lo cual cada  $3 \frac{1}{2}$  horas habrá mil veces más bacterias. Normalmente, el límite lo da la falta de alimento, cesando el crecimiento e iniciándose la fase estacionaria, en ésta el número de células queda constante y su duración puede ser de minutos, horas, días e incluso semanas. En la fase muerte las células comienzan a morir, se autodigieren y acaban lisándose (autólisis). Esto puede originar un proceso de canibalismo cuando ciertos microorganismos remanentes son capaces de crecer utilizando los productos de la lisis microbiana.

que se optimizan las funciones de los microorganismos para obtener los resultados deseados.

En la naturaleza, los factores que afectan el crecimiento y el metabolismo microbiano interactúan simultáneamente, y en todos los casos se encuentran grupos de especies diferentes de microorganismos. Es necesario recurrir a cultivos puros para realizar estudios de metabolismo, necesidades de alimento y nutrientes, productos del metabolismo y factores que alteren el crecimiento. Los hallazgos de laboratorio no pueden aplicarse directamente a la naturaleza, siendo necesario buscar correlaciones para simular el medio natural.

En poblaciones mixtas de microorganismos se pueden realizar las siguientes interacciones

**1) Simbiosis.** Es la relación beneficiosa entre dos clases de organismos, por ejemplo bacterias aerobias y algas.

**2) Neutralismo.** Es la coexistencia de tipos diferentes de organismos sin que exista interacción beneficiosa o perjudicial.

**3) Comensalismo.** Un organismo se beneficia sin afectar a otro por ejemplo conversión de materia orgánica compleja en ácidos volátiles que pueden utilizar las bacterias para producir metano.

**4) Mutualismo.** Es el crecimiento conjunto de dos tipos de organismos que no pueden crecer en forma independiente, ambos tipos de microorganismos se benefician.

**5) Competencia.** Dos tipos de organismos utilizan el mismo sustrato y compiten por el mismo alimento.

**6) Antagonismo.** Un tipo de organismo cambia el ambiente y lo hace adverso a otro organismo

**7) Parasitismo.** Un organismo pequeño consume a otro mas grande; uno vive de la actividad del otro.

**8) Predación.** Un organismo se alimenta de otros organismos regulando su población. Los protozoarios se alimentan de bacterias.

## 1.3 Tipos de Microorganismos

### 1.3.1 Clasificación de los Microorganismos

#### A).- Según la Fuente de Carbono

Los microorganismos usan dos fuentes de carbono en su metabolismo, producción de energía y síntesis de materia orgánica. En general, son específicos debido a que obtienen carbono de compuestos orgánicos o de dióxido de carbono y energía de las reacciones de oxidación de materia orgánica, de compuestos inorgánicos o del sol.

a) **Heterótrofas.** Que se nutren de materia orgánica, son la mayoría e incluyen todas las especies patógenas y otras especies ambientales.

b) **Autótrofas.** Que obtienen de las reacciones de oxido reducción y carbono del  $\text{CO}_2$ . A su vez se dividen en

- Quimiosintéticos, cuando obtienen su energía a partir de la oxidación de compuestos inorgánicos

- Fotosintéticos, cuando obtienen su energía de la radiación solar, sintetizan materia orgánica y protoplasma celular a partir del dióxido de carbono y agua, y producen oxígeno molecular.

#### B) - Según la necesidad de Oxígeno

Se encuentran formas de vida microscópica en medios donde hay oxígeno y donde se excluyó el mismo; en cada caso los microorganismos capaces de vivir allí pertenecen a diferentes grupos o especies. De esta manera, los microorganismos se clasifican según su necesidad de oxígeno en

##### a) Organismos Aerobios

Son aquellos que requieren de oxígeno disuelto para sus procesos metabólicos y no pueden vivir en medios privados de oxígeno.

##### b) Organismos Anaerobios

Sólo se encuentran en medios donde no hay oxígeno disuelto, éste es tóxico para ellos;

### c) Organismos facultativos

Tienen capacidad para vivir en medios aerobios y anóxicos. Pueden utilizar oxígeno de compuestos inorgánicos oxidados con el nitrito, nitrato, sulfato y fosfato.

## C).- Según el Intervalo de Temperatura

Los microorganismos se clasifican según el intervalo de temperatura en que desempeñan mejor

Clasificación	Intervalo de Temperatura(° C)	Optimo (° C)
Psicrofílicos o Criofílicos	-2 a 30	12 - 18
Mesofílicos	20 a 45	25 - 40
Termofílicos	40 a 75	55 - 65

## 1.3.2 Grupos de Microorganismos presentes en los procesos de corrosión y bioensuciamiento

En los procesos de bioensuciamiento y corrosión microbiológica son importantes los siguientes grupos de organismos : Bacterias, Hongos y Algas.

A continuación se presenta las características de cada grupo de microorganismos, a fin de tener un conocimiento básico de ellos.

### A).- Bacterias

Son protistas unicelulares. Se encuentran donde haya humedad y alimento en solución. Se reproducen por fisión binaria principalmente (**Ver figura 1.3.1C**), algunas sexualmente o por gemación (budding), que es el alargamiento de una parte de la célula que luego se separa.

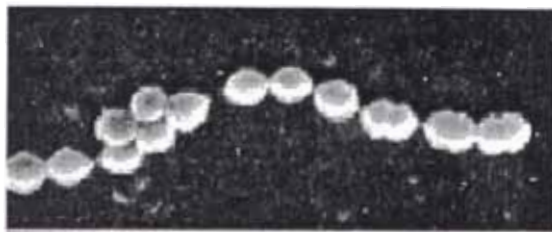
Las características mas importantes de las bacterias son su tamaño, forma, estructura y disposición con relación a otras bacterias de su misma especie.

Las formas mas comunes de bacterias son

**1) Cocoides** o esferas de  $0.5 \mu\text{m}$ ; estos géneros de bacterias se agrupan en:

a. diplococos, en pares,

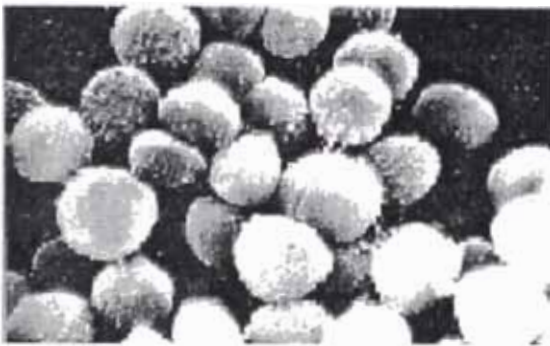




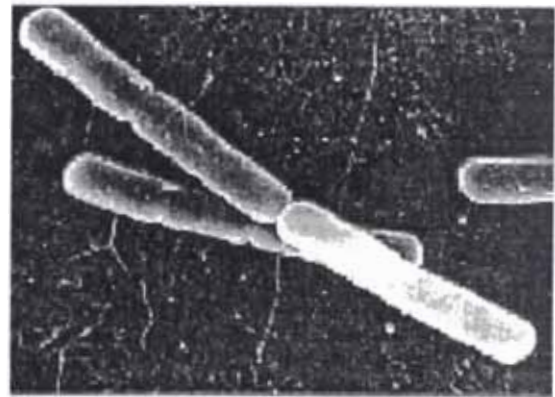
(A)



(B)



(C)



(D)

### Figura 1.3.1 Característica Morfológica de la Bacteria

A) *Streptococcus*, organismo formador de cadena, que se divide solamente en un plano.

B) *Staphylococcus*, un coco que se divide en más de un plano. La célula de ambos microorganismos mide alrededor de 1  $\mu\text{m}$ . de diámetro.

C) Microfotografía de Transformación Electrónica de un corte fino de células en división de la bacteria fotosintética marina, *Rhodospirillum rubrum*.

D) Microfotografía Electrónica de Exploración de cadena *Bacillus*. La células miden alrededor de 0.8  $\mu\text{m}$ . de diámetro.

- b. estreptococos, cuando se agrupan en hileras, Ejm. Streptococcus
  - c. tetracocos, en grupos de cuatro células,
  - d. estafilococos, células en agrupaciones desordenadas, Ejm. Staphylococcus
  - e. sarcina, células organizadas en tetraedros;
- 2) **Bacilos**, son células cilíndricas de 0.5 a 1  $\mu\text{m}$  de ancho por 1,5 a 3  $\mu\text{m}$  de largo, Ejm: Bacillus.
- 3) **Espirila**, son células en forma de espiral de 6 a 15  $\mu\text{m}$  de largo;
- 4) **Vibrio**, son células cortas en forma de espiral incompleta.
- Algunas de estas formas se muestran en la **figura 1.3.1**

La célula bacteriana se compone de un 80% de agua y 20% de material seco, del cual 90 % es orgánicos y el 10 % es inorgánico.

La temperatura del medio es muy importante para las bacterias y otros microorganismos : un aumento de 10 °C duplica las velocidades de las reacciones del metabolismo bacteriano; cada especie de bacteria se desempeña mejor dentro de cierto intervalo de temperatura; fuera de este intervalo su actividad se ve afectada apreciablemente.

El pH es importante para el crecimiento de los microorganismos , en general crecen bien a un pH entre 4 y 9.5, y el intervalo óptimo está entre 6.5 y 7.5.

## **B ).- Hongos y Mohos**

Son microorganismos aerobios multicelulares, no fotosintéticos y heterótrofos y unos pocos son parásitos o patógenos. Algunas especies ocasionan daños a las plantas y a los animales, mientras otras se utilizan en la industria para sintetizar productos químicos o elaborar alimentos, crecen en variedad de sustratos utilizando materia orgánica para producir cantidades considerables de ácidos orgánicos .

Los hongos y los mohos se diferencian en la estructura de la fructificación. Los mohos son generalmente filamentosos formados por hifas que conforman el micelio.

La reproducción puede ser sexual, asexual o por brotación o gemación (budding). En las formas sexual y asexual se reproducen distintos tipos de esporas, mientras que en los brotes aparece una pequeña yema que va tomando partes de la célula madre hasta que desaparecerán como una nueva célula.

Las levaduras son unicelulares y no forman micelio, son importantes en los procesos de fermentación.

Los hongos crecen en condiciones ambientales que no toleran las bacterias, principalmente poca humedad y condiciones ácidas y pH 5.6 como óptimo (intervalo de 2 - 9 ); requieren menos nitrógeno que las bacterias para el crecimiento, en general la mitad y casi siempre se encuentran en ambientes aerobios. Es posible utilizar hongos para el tratamiento de desechos industriales muy ricos en azúcares, con pH bajo, y con poco nitrógeno, aunque pueden surgir dificultades para obtener un lodo que sedimente con facilidad.

### C).- Algas

Se encuentran en muchos ambientes: agua, suelo, rocas, hielo y árboles.

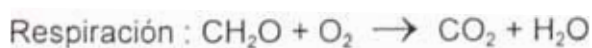
Las algas presentan muchos tamaños y formas, desde células unicelulares hasta agrupaciones de células o organismos multicelulares. La estructura celular es similar a la de otros seres vivos . A excepción de las algas azul-verdosas, todas tienen un núcleo con membrana, y se encuentra clorofila y otros pigmentos de las células.

Las algas son organismos autótrofos, fotosintéticos, que sintetizan protoplasma celular a partir del CO<sub>2</sub> y agua utilizando energía de la luz solar . Se reproducen sexual o asexualmente y los métodos de reproducción son confusos.

Las algas son indeseables en abastecimientos de agua , algunas especies dan origen a problemas de olor y sabor del agua y reducen la utilidad de los filtros. Las algas disminuyen la calidad del agua cuando presentan crecimientos masivos . Son útiles en lagunas de estabilización, dado que sintetizan oxígeno necesario para las bacterias en los procesos de oxidación de la materia orgánica. Las reacciones típicas de su metabolismo son :



Energía



Como consecuencia de la actividad metabólica de las algas en el agua, se presentan variaciones diurnas en la concentración de oxígeno disuelto (OD) y del  $\text{CO}_2$ , así como en el pH.

Para el crecimiento de las algas es necesario disponer de nutrientes, tales como nitrógeno y fósforo, trazas de cobre, hierro, molibdeno y otros materiales. El control del crecimiento de las algas se logra mejor midiendo los nutrientes en las aguas .

## 1.4 Microorganismos que inducen Procesos de Corrosión y Bioensuciamiento

### 1.4.1 Bacterias Formadoras de Biopelículas

Se consideran dos tipos : Formadoras de Esporas y No Formadoras de Esporas ( Ver figura 1.4.1 ). La Espora es una célula especializada que producen ciertas bacterias en condiciones inadecuadas de nutrición. La espora no posee actividad metabólica y es más resistente que las células progenitoras frente a los efectos letales del calor, desecación, congelación, productos químicos tóxicos y radiaciones. Por consiguiente la presencia de esporas en una bacteria hace que esta sea más difícil de eliminar.

#### A. No formadoras de esporas

Se caracterizan por producir masas gelatinosas floculantes, mucoides, las cuáles pueden ser coloreadas de gris o amarillo. Causan ensuciamiento, producen gas y crean las condiciones adecuadas para el desarrollo de las bacterias anaerobias.

La mayoría de las especies son aerobias o anaerobias facultativas. Estas últimas se pueden adaptar tanto a sistemas aireados como carentes de oxígeno. A este grupo pertenece *Flavobacterium*, *Aeromonas*, *Pseudomonas* ( *P. fluorescens*, *P. aeruginosa* ), *Mycoplasma Mycoides*, *Streptococcus* ( *S. Sobrinus*), *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Escherichia Coli*, etc. principalmente.

#### B. Formadores de esporas

Se caracterizan por producir masa gelatinosa, filamentosa, las cuáles pueden ser coloreadas de gris o amarillo. Causan ensuciamiento y produce condiciones adecuadas para el desarrollo de las bacterias corrosivas anaerobias. Estas bacterias incluyen las especies : *Bacillus Subtilis*, *B. Cereus*, y *B. Megatherium*, *Mycobacterium*, *Candida albicans*, etc. Son aerobios y algunas especies pueden producir cápsula.

Las bacterias facultativas tienen mayor ventaja sobre una no facultativa por su capacidad de adaptación a diferentes ambientes y su presencia en diversos sistemas será mas frecuente.



( A )



( B )

**Figura 1.4.1 Bacterias Formadoras de Slime (Babazas)**

(A) y (B) son Bacterias Pseudomonas ( Pseudomona - aeruginosa ). Presentes normalmente en todo proceso de formación de películas biológicas debido a que no son muy exigentes teniendo requerimientos de nutrición muy sencillos.

Igualmente aquellas bacterias que posean cápsula , tendrán mayor protección y serán más difíciles de eliminar. Las bacterias que posean esporas tolerarán un rango más amplio de temperatura, serán más resistentes a la acción de químicos , etc. , y subsistirán más que aquellas que no las posean (7).

Los sistemas de agua de enfriamiento cerrados y recirculantes que contengan concentraciones bajas de oxígeno usualmente se hallan libres de masas significativas de biopelículas (babazas), pero si el sistema está lo suficiente aireado el problema de la contaminación microbiológica esta a la vista.

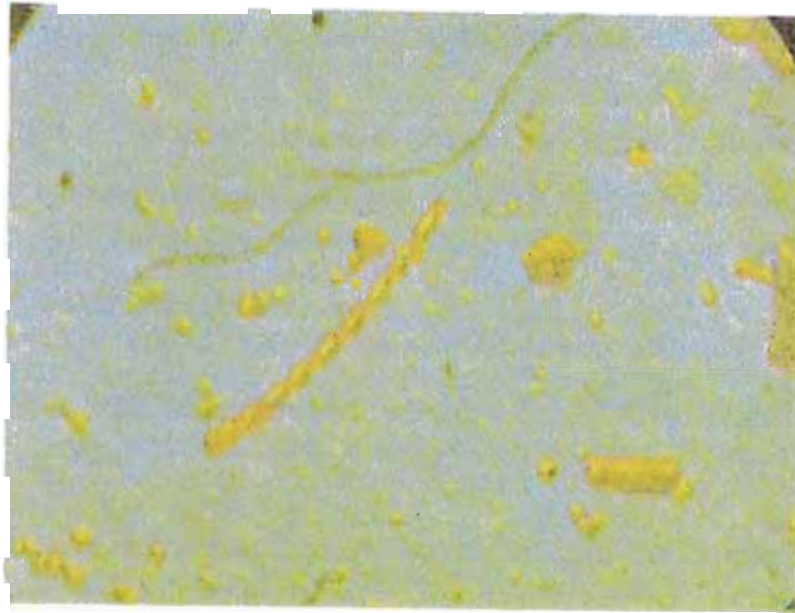
Las capas de babazas son una mezcla de secreciones bacteriales llamadas polimeros extracelulares, otros productos metabólicos, bacterias, gases, restos y agua. Comúnmente, el 99% de la capa de babazas es agua, aunque también puede quedar atrapada en ella mucho cieno y escombros (2)

Las capas de babazas contribuyen a la corrosión de manera tanto activa como pasiva. En primer lugar, ya que las formadoras de babazas naturales son aerobias, consumen oxígeno, y así estimulan la formación de celdas de oxígeno diferenciales. La capa de babazas forma una masa de oclusión (cambia la conducción de calor , influyen en el flujo o ambos), contribuyendo también a la formación de celdas de oxígeno diferenciales y al ataque pasivo. Segundo, y otra vez debido a que la mayoría de las formadoras de babazas son aerobias, estas bacterias están presentes encima de productos de corrosión y los depósitos próximos a las aguas oxigenadas. Muchas veces se encuentran bacterias anaerobias debajo de las babazas. Las sulfatorreductoras y las productoras de ácidos (sulfobacterias) se encuentran frecuentemente en altas concentraciones.

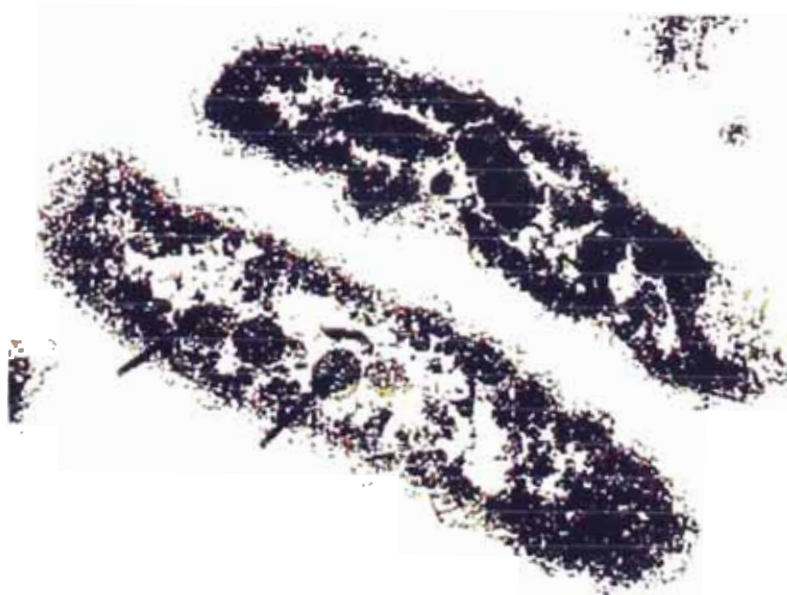
## 1.4.2 Bacterias que Inducen Procesos Corrosivos

### A).- Ferrobacterias

Estos organismos son encontrados usualmente en agua fresca, pero es posible también encontrarlos en agua salada. Son aeróbicos pero pueden encontrarse en sistemas con menos de 0.5 ppm de oxígeno, donde a menudo contribuyen a la formación de fango (18)



( A )



( B )

**Figura 1.4.2 Bacteria que inducen procesos corrosivos**

A) *Gallionella ferruginea* (Ferrobacteria)

B) *Thiobacillus neapolitanus* (Sulfobacteria), oxidante litotrófico del azufre. Una sola célula tiene 0.4  $\mu\text{m}$  de diámetro.



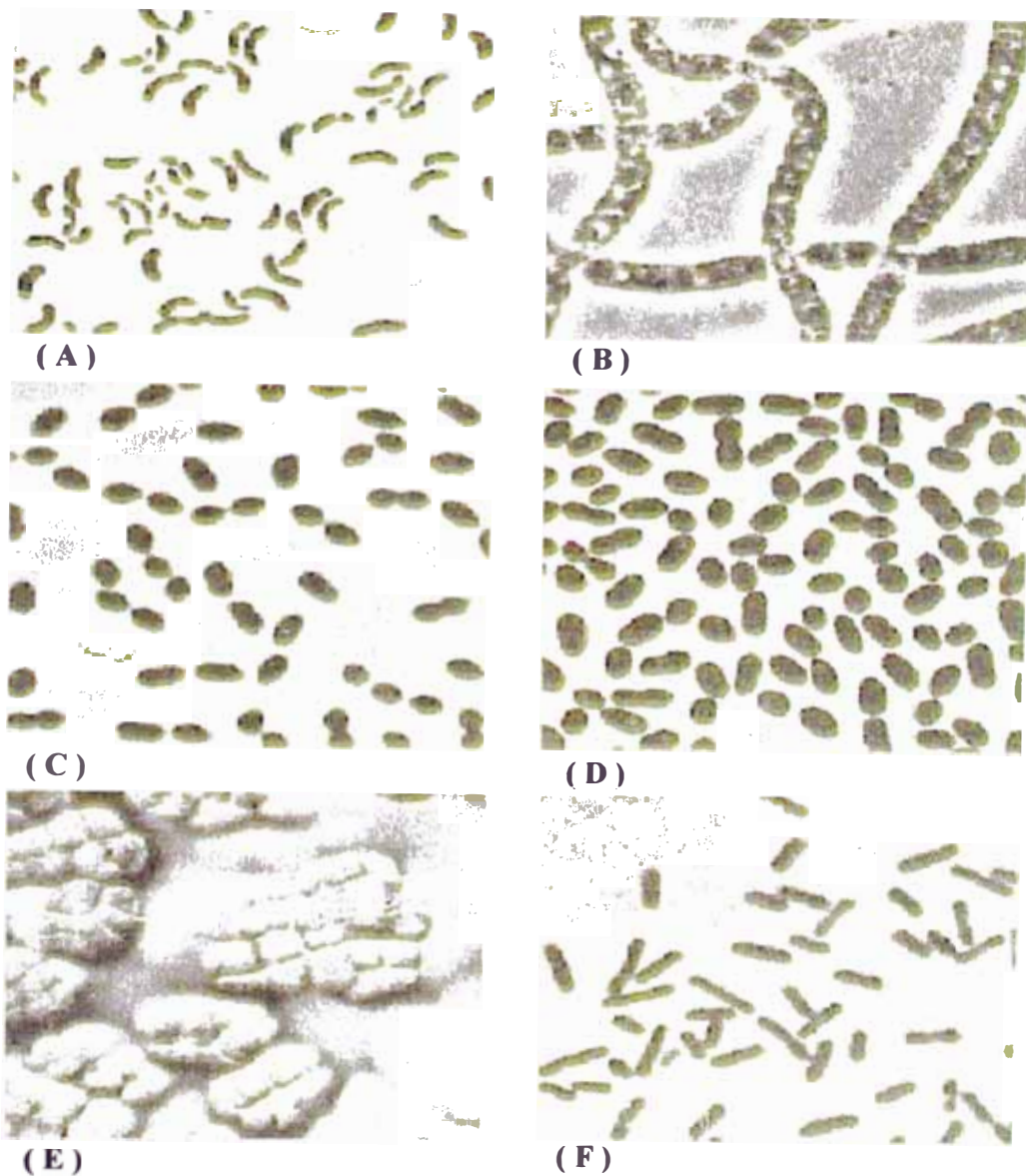
Las ferrobacterias obtienen la energía necesaria para su síntesis a partir de la transformación de las sales ferrosas en sales férricas. En las tuberías de metal ferroso y en un punto de la superficie no protegida, o alterada, la cual se encuentra en contacto con el agua, siempre ocurre un ataque del metal que da a lugar a la formación de hidróxido ferroso, en esas tuberías, rápidamente se transforman en hidróxido férrico hidratado y en carbonato, gracias al oxígeno y el gas carbónico disueltos, causando condiciones anaeróbicas debajo de depósitos <sup>(5)</sup>. En un segundo mecanismo, las ferrobacterias en áreas de baja concentración de oxígeno, convierte el ion ferroso a ion férrico, el cual se precipita como hidróxido férrico cubriendo las superficies del metal y produciendo celdas de aereación diferencial. En general el fenómeno se detiene allí.



La presencia de ferrobacterias en el punto en que el metal ha sufrido el ataque, va ocasionar la movilización de los iones ferrosos y su transformación en sales férricas. Esto se produce con rapidez siempre que el medio tenga iones ferrosos, observándose la formación de densas masas de herrumbre conteniendo los cuerpos bacterianos, a esa forma sigue la disolución ininterrumpida del metal. Entre los representantes típicos tenemos:

***Sphaerotilus*** : Se le considera como una bacteria depositadora de fierro, es una bacteria filamentosa que puede utilizar nutrientes orgánicos o hierro ferroso como fuente de energía, transformando el fierro soluble en insoluble (  $\text{Fe}^{+2}$  a  $\text{Fe}^{+3}$  ). Es aerobio y por consiguiente se les encuentra en pozos poco profundos y en superficies de aguas aireadas. Su efecto difiere de ligeramente de la *Gallionella* porque el hierro no siempre está presente en sus depósitos. Posee una morfología característica que sirve para su identificación característica. Ejemplo : *Sphaerotilus natans*

***Gallionella*** : Crece mejor en condiciones de baja o ninguna concentración de oxígeno, en pozos profundos. Utiliza hierro soluble como fuente de energía y el óxido férrico que excreta, tiene una apariencia de espiral cuando la observamos al microscopio ( *Gallionella Ferruginea*, **Figura 1.4.2 A** ).



**Figura 1.4.3 Bacteria Reductoras de sulfato y Reductoras de Azufre**

- A) *Desulfovibrio desulfuricans* (diámetro 0.7  $\mu\text{m}$ )
- B) *Desulfomona limicola*
- C) *Desulfobulbus propionicus* (diámetro 1.2  $\mu\text{m}$ )
- D) *Desulfobacter postgatei* (diámetro 1.5  $\mu\text{m}$ )
- E) *Desulfosarcina variabilis* ( diámetro 1.25  $\mu\text{m}$  )
- F) *Desulfuromonas acetoxidans* (Sulfobacteria)

Otras bacterias depositadoras de hierro son *Crenothrix*, *Leptothrix*, e *Hyphomicrobium indicum*; estas así mismo pueden depositar manganeso. Los depósitos formados por estas bacterias son una mezcla de esqueletos de óxido férrico y bacterias, estos depósitos lamosos se pegan en las tuberías causando además celdas de concentración.

## B ).- Bacterias Sulfatorreductoras

En 1923, Von Wolzogen Kühr describió el importante papel que desempeñan estas bacterias. Las Sulfatorreductoras, únicamente, forman parte de un solo grupo de Vibrionaceas, cuyo representante es el *Desulfovibrio desulfuricans*. Puesto que son anaerobias obligadas, a estas bacterias se les encuentra bajo la capa de herrumbre que se halla en contacto con el metal, donde no llega el oxígeno <sup>(26)</sup>.

Estas bacterias transforman los sulfatos en ácido sulfhídrico, el cual se combina con las sales ferrosas para dar un negro insoluble. Se ha comprobado que, además de afectar a los metales ferrosos, el ácido sulfhídrico produce corrosión de manera muy especial en las tuberías de plomo; independientemente de que estas se encuentren o no, bajo tierra. Las bacterias sulfatorreductoras secretan una enzima llamada hidrogenasa, cuya finalidad es catalizar la reacción siguiente



Esta reacción hace que se despolarize el cátodo acelerando la corrosión.

Entre los representantes típicos tenemos : *Desulfovibrio desulfuricans*, *Desulfovibrio vulgaris*, *Desulfomonas*, *Desulfomaculum nigrificans* (anteriormente se le llamaba *Clostridium nigrificans*). En la **figura 1.4.3** se muestran ejemplares de Sulfatorreductoras.

## C ).- Sulfobacterias

Estas bacterias

- Metabolizan el azufre a partir de compuestos azufrados reducidos y los expulsan al medio ambiente o lo almacenan dentro de su célula (glóbulos refringentes),

- O bien lo oxidan, lo mismo que sus compuestos, con formación de productos ácidos ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )

En el primero de estos casos habrá una formación de lodos.

En el segundo caso se producirá una modificación importante del pH del medio, ejerciendo una acidificación corrosiva. Entre los representantes típicos tenemos

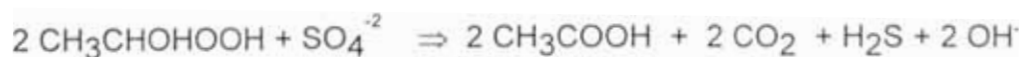
***Thiobacillus*** : Se le conoce como bacteria productora de ácido, pues puede crear ambientes altamente corrosivos con valores de pH menores que 3 bajo los depósitos, como resultado de la formación de  $\text{H}_2\text{S}$  y  $\text{H}_2\text{SO}_4$  como subproductos metabólicos. Así tenemos a *T. Thiooxidans*, *T. novellus*, *T. Neopolitanus* ( ver **figura 1.4.2 B** ), etc. Entre las depositadoras de Azufre destaca *Beggiatoa*

***Beggiatoa*** : Son bacterias libres, móviles, aislados o en formas de masas vellosas de color blanco o crema. Se encuentra en la naturaleza en primer lugar en hábitats ricos en  $\text{H}_2\text{S}$ , por ejemplo manantiales sulfurosos, lecho de algas marinas en descomposición, capas de lodo de lagos, y agua contaminada con aguas negras, y en estos hábitats los filamentos de la *Beggiatoa* están llenos de gránulos de azufre, oxida el  $\text{H}_2\text{S}$  a  $\text{S}^0$  y después a  $\text{SO}_4^{-2}$ , por lo que se le considera como una típica depositadora de azufre.

## D).-Otras Bacterias

### D.1 Bacterias Carbonatorreductoras

Tienen un metabolismo parecido a las bacterias Sulfatorreductoras del genero *Desulfovibrio*. Mientras que el producto final del proceso de reducción de los sulfatos es el ácido sulfhídrico, el que corresponde a la reducción de carbonatos es el metano <sup>(7)</sup>.



Ciertas bacterias llamadas metanogénicas, que extraen su energía metabólica de la oxidación de ciertos substratos orgánicos simples (acoplados a la reducción de los carbonatos en metano), presentan también la posibilidad como las *Desulfovibrio*, de utilizar directamente el hidrógeno molecular :



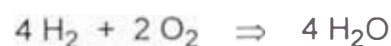
Entre los representantes típicos tenemos : *Methanobacterium*, *Methanosarcina* y la *Methanococcus*.

## D.2 Bacterias que oxidan el hidrógeno

Son numerosas las bacterias que oxidan el hidrógeno, a pesar de lo cual, solo se mencionará dentro de esta categoría el genero *Hydrogenomonas*. Por otra parte, como sucede con muchas otras, las bacteria correspondientes a este genero tienen la posibilidad de secretar una enzima, la hidrogenasa, cuya finalidad es la de catalizar la siguiente reacción

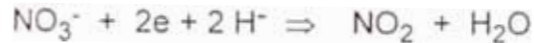


Hay un número importante de bacterias que poseen una hidrogenasa, las cuáles se mantienen bien en presencia en materias orgánicas, y no oxidan necesariamente el hidrógeno molecular. Por el contrario, el género de *Hydrogenomonas* incluye bacterias que elaboran su material celular a partir del  $\text{CO}_2$  y utilizan el hidrógeno molecular <sup>(7)</sup>. Estas bacterias son potencialmente quimiolitótrofas.



Entre las bacterias que oxidan el hidrógeno es conveniente citar aquí otra bacteria que abunda en el suelo y que se desarrolla fácilmente en anaerobiosis en medios de cultivo autótrofos.

Se trata del *Micrococcus denitrificans* que oxida el hidrógeno molecular y que para ello utiliza nitratos.



En el primer caso se notará la formación de  $\text{NO}_2$ , producto tóxico cuya acumulación en el organismo puede conducir a la aparición de graves trastornos. En el segundo caso el nitrógeno formado se encuentra desprovisto de toda toxicidad.

Las bacterias quimiolitótrofas que oxidan el hidrógeno anteriormente eran incluidas en el género *Hydrogenomonas* que acaba de mencionarse, y se distinguía entre ellas cuatro especies que se diferenciaban unas de otras por su sensibilidad a las fuertes concentraciones de oxígeno y asimismo, de acuerdo con su capacidad para formar o no un velo en la superficie de los medios de cultivo autótrofos.

De esta manera se distinguían *H. pantotrophe*, *H. facilis*, *H. flava*, *H. vitrea*.

Algunos autores consideran el género *Pseudomonas* como bacterias que también oxidan el hidrógeno como por ejemplo : *P. facilis*, *P. saccharofila*, *P. ruhlandii*, *P. flava*, *P. palleroni*.

### D.3 Bacterias Fermentativas

Existe un tipo especial de bacterias anaeróbicas formadores de esporas que son básicamente fermentativos y tiene una amplia variedad de mecanismos de producción de energía anaeróbica.

Atacan y descomponen rápidamente (fermentan) carbohidratos, proteínas, aminoácidos, almidones, polisacáridos, purinas, etanol, originando olores putrefactos y liberando grandes cantidades de gas, pero no reducen sulfato <sup>(15)</sup>.

Estas bacterias pertenecen al género *Clostridium*, son anaerobias obligadas, heterotróficas, producen una gran cantidad de ácidos orgánicos pudiendo ocasionar problemas de corrosión, además de ser extremadamente resistentes al calor tienen un amplio rango de pH.

## D.4 Bacterias Nitrificantes

Es un grupo de bacterias litotróficas que tiene la particularidad de oxidar amoníaco a nitrato, para lograr esto se requiere la participación de las bacterias fijadoras de óxido nítrico (oxidantes de amonio) y las bacterias fijadoras de nitrito (oxidantes de nitrato), produciendo ácido nítrico concentrado que puede originar picaduras localizadas en estructuras metálicas.

### 1.4.3 Algas

Casi siempre se encuentran en el distribuidor de agua de las torres de enfriamiento y superficies húmedas expuestas al aire y sol. Cuando existen crecimientos grandes, se parten cayendo a la piscina de la torre de donde pueden pasar al sistema de recirculación causando problemas y restricciones de flujo de agua. Estos crecimientos pueden actuar como nutrientes para las bacterias formadoras de slime, las cuáles se desarrollan en este ambiente.

Las algas se clasifican en varios grupos o clases según sus características morfológicas, los pigmentos fotosintéticos, la estructura de reproducción y los productos que sintetizan ( **Ver figura 1.4.4** ) :

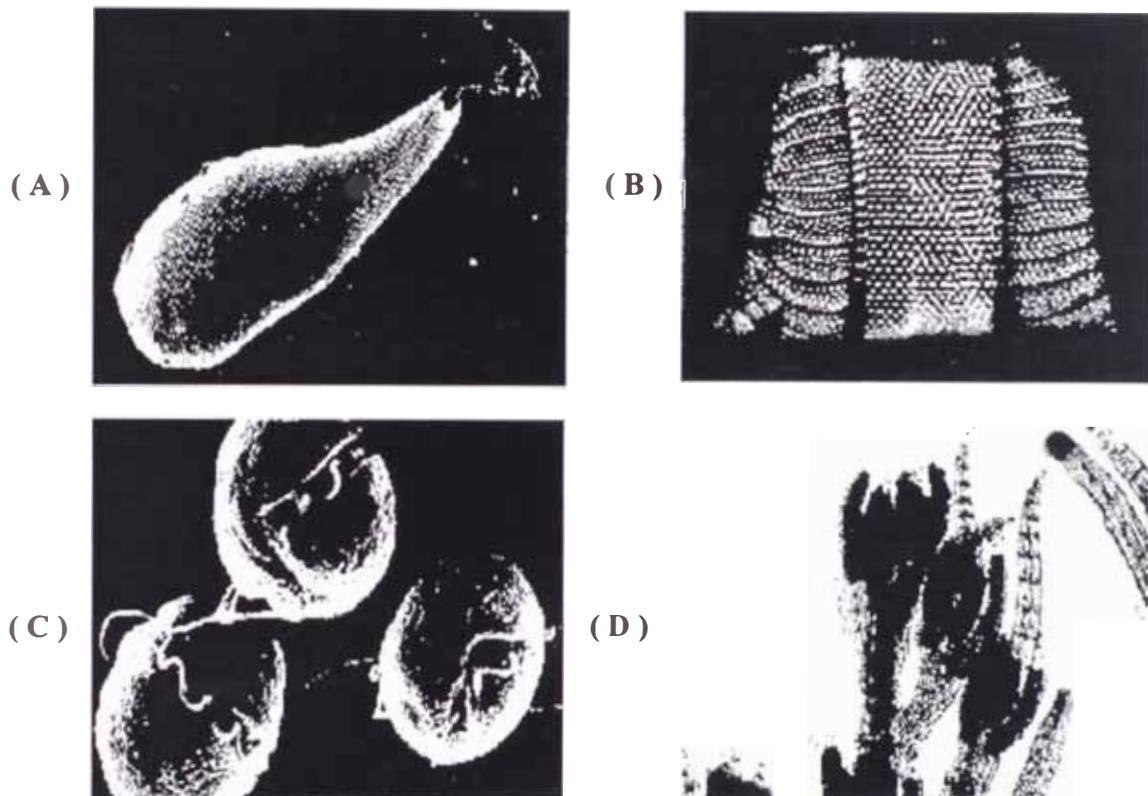
**1) Chlorophicophyta (algas verdes).** Incluyen algas unicelulares, en las que la clorofila y otros pigmentos están dentro de los cloroplastos, donde se realiza la fotosíntesis. Poseen varios métodos de reproducción. El núcleo de la célula tiene membrana, es decir con organismos eucarióticos. Ejemplo :

Spirogira, Chlorella (C. vulgaris, C. pyrenoidosa), Ulothrix (U. fimbriata), Scenedemus Obliquus, etc.

**2) Euglenophicophyta ( algas verdes móviles).** Tienen un flagelo, son unicelulares, se reproducen mediante división de la célula y forman colonias. Ejemplo: Euglena, Mastigophora, ambas algas de agua dulce, eucarióticas.etc.

**3) Chrysophicophyta ( algas verde amarillo o dorado marrón).**

Incluyen las diatomeas, se las halla en aguas dulces y saladas, sus pigmentos las diferencian de las algas verdes. La mayoría son unicelulares. Son células eucarióticas. Las diatomeas forman el grupo más importante en esta clase.



**Figura 1.4.4 Microfotografía electrónica de exploración de algas**

- A) Euglena
- B) Isthmix
- C) Gonyaulax
- D) Polysiphonia



Tienen caparazones de sílice y pueden formar depósitos en tuberías, filtros y otro equipo similar.

Depósitos de estas algas se utilizan en la industria principalmente como ayuda de la filtración. Ejm. Diatomea Navicula

#### **4) Cyanophicophyta ( algas azul verdosas).**

Son células de conformación simple semejante a las bacterias, es decir, organismos unicelulares procarióticos. El núcleo no está rodeado por una membrana.

No tienen cloroplastos y los pigmentos se encuentran dispersos en las células. La reproducción es división molecular, forman agregados rodeados por un material mucoso.

Los productos del metabolismo de estas algas proporcionan sabores desagradables al agua. Pueden utilizar nitrógeno de la atmósfera para la síntesis celular. Ejemplo : Mixophyceae, Oscillatoria, Chlorococcus, etc.

#### **5) Pirrohicophyta ( algas dinoflageladas).**

Algunas son móviles; los flagelos salen de un solo lugar de la célula. Ciertas especies, como Gonyacelax, se presentan en grandes masas o marea roja del océano, y resultan tóxicas para los peces.

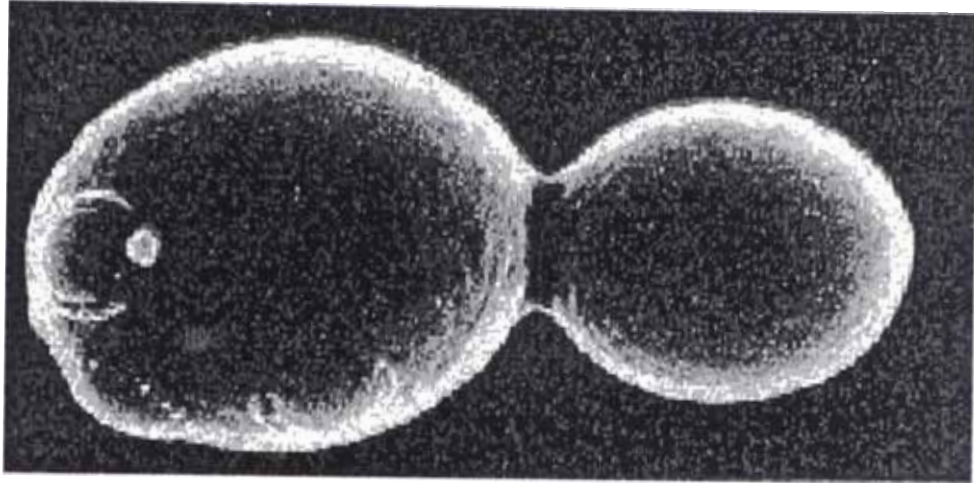
**6) Phaepicophyta.** Son multicelulares en ambiente marino, con pigmentos marrones. Ejm . Laminaria

**7) Rhodophicophyta.** Alga roja multicelular de océanos cálidos. Ejm. Polisiphonia

Las dos últimas especies se cosechan para extraer productos útiles en la industria, entre ellos el agar.

Muchas especies de algas se utilizan como alimento en el lejano oriente, y especies como Chlorella ofrecen posibilidad de convertirse en fuentes de proteína para el hombre y animales.

Algunas algas producen toxinas letales para los peces y otros animales, tal es el caso de los géneros Gonyaulax (marea roja), Microcystis y Anabaena, algas azul verdosas, que sintetizan toxinas que ocasionan la muerte de aves y mamíferos que beben aguas contaminadas con las toxinas.



(A)



(B)



(C)

**Fig. 1.4.5 Moho y Levadura**

A) *Saccharomyces cerevisiae*, levadura común de panadería y cervecería. Nótese la división por gemación.

B) Plasmodio (moho viscoso) desarrollándose sobre la madera en descomposición

C) Plasmodio desarrollándose sobre la superficie del agar

## 1.4.4 Hongos

Existen dos clases de hongos que ocasionan problemas en sistemas de enfriamiento y son : Mohos y Levaduras ( **Ver figura 1.4.5** ). Esta identificación es importante ya que un solo organismo de moho, es comparativamente mayor y presenta más resistencia hacia los agentes químicos que se utiliza para darle muerte.

Tanto los mohos como las levaduras pueden resultar de una contaminación por aire en los sistemas de enfriamiento, pudiendo depositarse.

**1).- Mohos** .Son filamentosos y los generos más comunes son : Aspergillus, Penicillium, Trichoderma, Alternaria, Mucor, Plasmodio

**2).- Levaduras**. Las más problemáticas son Torula, Monilia, Rhodotorula, Geotrichum, Saccharomyces.

Ciertos hongos son responsables del deterioro de la madera, pues utilizan la celulosa como fuente de carbono en su crecimiento. Los hongos responsables de la pudrición superficial de la madera son del grupo Ascomicetos, y los responsables de la pudrición interna son del grupo Basidiomicetos.

## 1.5 Bacterias Sulfatorreductoras

Murray e Irvine (1893) demostraron por primera vez la reducción biológica de los sulfatos, atribuyendo a esta causa la abundante formación de sulfuros que había observado, durante una expedición, en el lodo negro oceánico. Poco después. Beijerinck (1895) aisló en Delft el microorganismo conocido actualmente como *Desulfovibrio desulfuricans* ( Ver figura 1.5.1 ) a partir del lodo de un canal de agua dulce. La escuela de Delft hizo mas tarde importantes contribuciones al estudio de las bacterias sulfatorreductoras, destacando el descubrimiento de sus formas marianas halófilas (Van Delden, 1904), y de las formas termófilas (Elion, 1924), así como los importantes trabajos sobre las propiedades fisiológicas y actividad bioquímica de estas bacterias (Baars, 1930; Starkey, 1938).

### 1.5.1 Genero Desulfovibrio

Este género comprende la bacteria de agua dulce descubierta por Beijerinck (*D. desulfuricans*), las estirpes halófilas de Van Delden (*D. aestuarii*) y una especie aislada en 1963 (*D. gigas*, Le Gall), que presenta propiedades interesantes.

Son bacterias no esporuladas, curvas, en forma de vibrio, aisladas o formando cadenas cortas, que dan un aspecto falso de espirilo. Muy móviles, las células son a menudo pequeñas ( $0.5 \mu \times 1$  a  $2 \mu$ ) y monotricas. La especie *D. gigas* se distingue por su gran tamaño ( $1 \mu \times 5$  a  $6 \mu$ ) y por sus flagelos lofotricos.

Las especies del género *Desulfovibrio* son anaerobias estrictas. Reducen el sulfato a sulfuro de hidrogeno y utilizan como fuente de energía y de poder reductor unos pocos compuestos orgánicos, entre ellos ácidos dicarboxilicos (fumarico y malico), el piruvato y el lactato, que es el sustrato que se suele emplear en los medios de cultivo <sup>(16)</sup>. Debido a que poseen una Hidrogenasa muy activa, descubierta por Stephenson y Stickland (1930), las bacterias Sulfatorreductoras reducen el sulfato utilizando hidrogeno molecular. Basándose en este hecho varios autores han considerado a *Desulfovibrio* como un organismo autótrofo facultativo. Sin embargo Mechals y Rittenberg (1960) han demostrado que *D. desulfuricans* pertenece a un tipo tirófico especial, intermedio entre el autotrofismo y el heterotrofismo. Esta bacteria utiliza la oxidación anaerobia del  $H_2$  como única fuente de energía para su crecimiento, y es, por tanto, quimilitrotofa, pero en cambio, es incapaz de utilizar  $CO_2$  como

única fuente de carbono por lo que es autótrofa en sentido estricto. Al igual que la mayoría de las bacterias que poseen una hidrogenasa, los Desulfovibrio, o por lo menos algunas de sus estirpes, fijan el nitrógeno atmosférico (Le Gall y Senez 1959) <sup>(25)</sup> .

La *D. desulfuricans* desempeña un papel principal en la corrosión inducida por bacterias, reduce los sulfatos mediante la producción de H<sub>2</sub>S o reducen el gas carbónico por formación de metano, tienen forma de bastoncillos ligeramente curvos que miden de 0,5 a 1 μ por 1 a 5 μ . Se les encuentra aislados , aunque algunas veces también en cadenas pequeñas. Las bacterias mas viejas aparecen negras, coloración debido a la precipitación de sulfuro de fierro, son bacterias gram negativas móviles gracias a su flagelo polar. Estas bacterias son susceptibles de desarrollarse directamente en el medio ambiente, o bien, son capaces de permanecer en estado latente en él y así esperar a que se produzcan las condiciones favorables para su proliferación. Es por esta razón que no obstante que algunas instalaciones funcionen perfectamente cuando son puestas en servicio, después de un cierto tiempo se observan problemas (perdida de carga, perforaciones, obstrucciones, etc.) sin que al parecer, hubiera nada que pueda predecirlo.

*D. desulfuricans* es la primera bacteria anaerobia estricta en la que se ha encontrado un citocromo (Postgate, 1956), el cual funciona como transportador bielectrónico, además es autooxidable y tiene un potencial de oxidorreducción muy negativo (E= -211 mV). Peck (1965) ha demostrado que el transporte de electrones por estos citocromos esta acoplado a una fosforilación del ADP a ATP, lo que refuerza la analogía entre la respiración sulfato de Desulfovibrio y la respiración propiamente dicha de organismos aerobios <sup>(3)</sup> .

Además de los citocromos, los Desulfovibrio poseen otro pigmento característico, la desulfovirdina de función desconocida (Postgate, 1956) , así como una ferredoxina (Tagawa y Arnon, 1962).

### ***Bacterias Sulfatorreductoras Esporuladas***

La taxonomía de las bacterias sulfatorreductoras estuvo durante algún tiempo oscurecida por las observaciones que intentaban demostrar que una adaptación progresiva a temperaturas crecientes o decrecientes permite convertir las

formas mesófilas esporuladas en formas esporuladas y termófilas obligadas, que solo se desarrollan por encima de +55 °C . Por este motivo se había propuesto atribuir al conjunto de las bacterias sulfatorreductoras el nombre genérico de Sporovibrio (Starkey, 1938). Sin embargo, Campbell (1957) demostró que las observaciones anteriores se habían realizado en cultivos impuros y que las bacterias esporuladas y termófilas son en realidad organismos distintos de los Desulfovibrio, que son siempre mesófilos y esporulados. Los organismos esporulados son bacilos rectos o algo curvos caracterizados por poseer flagelos peritricos, por la ausencia de desulfovirdina y por poseer citocromo distintos, también se ha demostrado que el ADN de estas bacterias tiene una composición de bases muy diferentes de los Desulfovibrio, esto confirma que pertenecen a grupos taxonómicos alejados <sup>(3)</sup> .

Campbell y Postgate (1965) han propuesto que se reúnan estas bacterias sulfatorreductoras esporuladas y peritricas bajo el nombre de *Desulfomaculum*. Además de la bacteria termófila estricta de Ellion (1924) y de Starkey (1948), que ha sido identificada después como *Clostridium nigrificans*, el nuevo genero *Desulfomaculum* comprende dos especies mesófilas mas, aisladas una del suelo (*D. orientis*) y otra de la panza de la oveja (*D. ruminis*).

### 1.5.2 Ecología y Geomicrobiología de las bacterias sulfatorreductoras

Las bacterias sulfatorreductoras son ubicuas y se encuentran siempre en mayor cantidad en el suelo y los sedimentos marinos y de agua dulce. Cuando encuentran las condiciones favorables, es decir, un medio anaerobio que contenga sulfatos y un sustrato energético, pueden producir grandes cantidades de SH<sub>2</sub>, tolerando concentraciones de varios gramos por litro de esta sustancia, muy tóxica para la mayoría de los organismos.

Ello explica el carácter abiótico de los fiordos noruegos (Strom, 1939) y del Mar Negro ( Issatchenko, 1924). En este mar, el contenido de sulfuro de hidrógeno, producido en el seno de los sedimentos por bacterias sulfatorreductoras, es nulo en la superficie, pero es de 45 mg por litro a 180m. de profundidad y llega a 1g por litro en las aguas mas profundas (2160 m.).

La actividad de las bacterias sulfooxidantes, también ubicuas, protege la fauna y la flora contra el H<sub>2</sub>S formado por las bacterias sulfatorreductoras.

Las sulfobacterias purpúreas pueden por ello proliferar de tal forma que le comunican al agua una coloración muy ostensible, fenómeno descrito por los oceanógrafos como "agua roja". Los thiobacillus desempeñan una función protectora mas importante aún.

En algunos biotopos marinos, sobre todo en las lagunas litorales ;poco profundas, el equilibrio biológico entre bacterias sulfatorreductoras y sulfooxidantes puede romperse bruscamente por un aumento en la producción de  $H_2S$  o también porque otros microorganismos aerobios compitan con los thiobacillus por el consumo de oxígeno disuelto. Ello provoca distrofias estacionales , que suelen producirse en tiempo caluroso y cuya consecuencia es una mortalidad súbita en la flora y fauna.

Las bacterias sulfatorreductoras ocasionan un tipo muy grave de corrosión de hierro y acero, que se produce en los suelos anaerobios, y que tienen una gran importancia económica. Se cree que su acción consiste en una despolarización de las pilas de corrosión electrolíticas debido a una hidrogenasa que utiliza, para reducir los sulfatos, el hidrogeno que se forma sobre la superficie catódica del metal (Von Wolzogen Kuhr y Van Vlugt, 1932) .

El agua y los crudos de los yacimientos suelen contener bacterias sulfatorreductoras y sulfooxidantes, a veces en gran cantidad (Bastin, 1926).

Por ello se ha propuesto la hipótesis de que las bacterias sulfatorreductoras han desempeñado un papel importante en la formación del petróleo, por reducción de la materia orgánica de los sedimentos (Zobell, 1946), pero esta teoría no ha podido confirmarse , y se desconoce si las bacterias sulfatorreductores y sulfooxidantes son autóctonas o se deben a la contaminación secundaria de la superficie en el momento de la extracción <sup>(9)</sup>

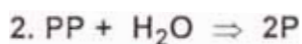
En cambio, esta perfectamente demostrado que las bacterias reductoras tienen otra intervención geomicrobiológica importante: la formación de muchos yacimientos de azufre nativo entre los que destacan las "colinas de azufre" de Texas y de La Florida. Mac Namara y Thode (1950) han demostrado que el azufre y los sulfuros originados por reducción biológica del sulfato se caracterizan por una relación isotópica  $S_{32}/S_{34}$  más elevada que la del azufre meteórico o volcánico tomado como referencia. La reducción biológica del azufre va acompañada de su enriquecimiento del sulfuro en el isótopo ligero  $S_{32}$  e, inversamente, el isótopo pesado cada vez menor en la medida se ascienda en la escala de los tiempos, y acaba por anularse en los sedimentos que datan

de setecientos a ochocientos millones de años. Esta época relativamente reciente con respecto a la escala de los tiempo geológicos y a la evolución biológica, corresponde según Thode y Mac Namara a la desaparición de las bacterias sulfatorreductores, aunque algunos autores sostienen que estas bacterias son mucho más antiguas.

### 1.5.3 Metabolismo

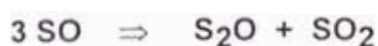
Estos organismos anaeróbicos realizan procesos de respiración de sulfatorreducción, en el cual el sulfato actúa como un terminal acceptor de electrones (en lugar del oxígeno en las formas de vida aeróbicas), por su proceso respiratorio <sup>(25)</sup>. Se ha declarado que la reducción del sulfato es uno de los procesos microbiológicos más comunes que ocurren en todo el mundo.

El proceso metabólico de la reducción del sulfato realizado por la célula, es solo conocido parcialmente. Los pasos iniciales pueden ser representados así



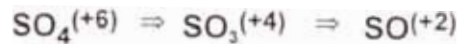
El Sulfato es activado por el ATP (adenosin trifosfato; un compuesto energético descubierto en todos los organismos terrestres), para formar un diferente nucleótido, adenosin-5-fosfosulfato (APS). La enzima que activa esta reacción es el ATP-sulfurilasa. Otra enzima, la pirofosfatasa, remueve el pirofosfato (PP), hidrolizando al ortofosfato, esto hace que el equilibrio de la reacción (1) vaya hacia la derecha. El APS es luego reducido por la enzima APS-reductasa mas electrones de hidrógeno (vía una hidrogenasa), para formar sulfito y AMP (adenosin monofosfato).

Los pasos de reducción del sulfito son generalmente desconocidos. Un disulfuro de oxígeno ha sido identificado como un producto gaseoso relativamente estable (en ausencia de aire y humedad) del Desulfovibrio, tal vez es producido de la casi inmediata descomposición del SO <sup>(22)</sup>





Se podría concebir que el SO es un producto intermedio en la reducción del  $\text{SO}_3^{-2}$ , asumiendo que el azufre reduce dos electrones por cada paso



#### 1.5.4 Pruebas para su determinación

Las bacterias sulfatorreductoras se encuentran entre los microorganismos más destructivos, y su impacto ambiental es muy amplio. Ellas causan corrosión y agrietamiento por corrosión y fatiga (stress corrosión cracking) de metales y aleaciones usados en refinería e industria del petróleo, sistemas de enfriamiento, sistemas de tratamiento de residuales, producción de pulpa y papel y en todos los procesos acuáticos.

En 1910 se reconoció que las BSR son las responsables de las picaduras en tuberías enterradas.

Las BSR producen sulfuro de hidrógeno que son más letales que el cianuro de hidrógeno. Algunas veces el sulfuro es usado por otros organismos para obtener ácido sulfúrico, el cual destruye rápidamente las redes de concreto de las aguas municipales. El agotamiento de oxígeno y la existencia de sulfuro de hidrógeno suprime la vida marina en las áreas infestadas con estas bacterias que suelen establecerse en las profundidades.

Los síntomas de los problemas relacionados con BSR son:

- Olor de Sulfuro de hidrógeno
- Ennegrecimiento de las aguas
- Productos de corrosión sulfurosos de color negro

Normalmente un tratamiento efectivo es mucho más fácil de llevarlo a cabo si la infestación es detectada en un estado inicial (temprano).

En los últimos años, los ensayos microbiológicos para BSR estaban limitados a cultivar la muestra en laboratorio hasta que el número de BSR fuera lo suficientemente alto para ser detectados por métodos comunes, tales como la observación del ennegrecimiento general de la muestra. Sin embargo tales métodos tienen serias limitaciones, partiendo del hecho de que las BSR, no está representada por una sola especie sino que incluye una colección de diferentes tipos de organismos.

Los tipos de BSR conocidos actualmente tienen diferentes requerimientos con respecto a los nutrientes y la temperatura. Por esta razón, ensayos para evaluar

BSR basados en el crecimiento sobre un medio en particular o a una temperatura será siempre selectiva para ciertas especies.

#### 1.5.4.1 Métodos de cultivo

##### 1. Botellas de Cultivo API RP-38

Desarrollado por American Petroleum Institute descrita en su práctica recomendada No. 38 ( Técnicas Alternativas para la estimación de Bacterias Sulfato Reductoras ) , este método usa un medio basado en Lactato de Sodio. Cuando las bacterias Sulfato Reductoras están presentes en la muestra, ellas reducen el sulfato en el medio a sulfuro , el cual reacciona con el hierro en la solución para producir sulfuro negro de hierro <sup>(1)</sup> . El ennegrecimiento del medio después de un periodo de 28 días , es señal de presencia de Bacterias Sulfato Reductoras.

El procedimiento consiste en inyectar 1 ml. de muestra dentro de una botella conteniendo 9 ml. de líquido del medio de cultivo . La botella es después agitada vigorosamente, y se usa una nueva jeringa para extraer 1 ml. de muestra e inyectarla dentro de un nuevo medio de cultivo. Este procedimiento es repetido para producir tantas diluciones como son repetidas . RP-38 especifica una serie de 5 , pero pueden ser necesarias 10 ó 12 botellas , cuando los conteos son muy altos.

La interpretación más simple de los resultados de la prueba, es considerar que una botella ennegrece , la muestra contiene al menos 1 col/ml , si dos lo hacen , la muestra contiene al menos 10 col/ml. ; 3 botellas ennegrecidas , significan 100 col/ml. ; y así sucesivamente.

Usualmente los resultados son reportados como rangos, por ejemplo si 4 botellas ennegrecen, puede interpretarse como  $10^3$  a  $10^4$  colonias/ml. en la muestra original . Si el símbolo mayor o ( $\geq$ ) aparece, significará que todas las botellas de la serie se tornaron negras. En ocasiones , una botella de la serie, puede permanecer clara , mientras que botellas de mayor y menor dilución ennegrecieron. Cuando esto sucede los resultados son interpretados como si la botella que permaneció clara hubiese también ennegrecido , esto

es , la última botella en la serie que realmente se torna negra, determina el resultado de la prueba.

## 2. Agar Deeps

Desarrollado por Laboratorios Biosan (USA) . El medio es una ligera modificación del medio RP-38 , con sulfito de sodio que actúa como secuestrante de oxígeno. Como con las botellas RP-38 , el ennegrecimiento del medio indica prueba positiva de Bacterias Sulfato Reductoras. El contenido de bacterias es estimado en este caso por la rapidez del ennegrecimiento.

El medio es inoculado utilizando un limpiador de tubos dentro de una muestra sin diluir e insertando esta en un vial de agar semisólido.

Se añade entonces, aceite mineral y tabletas generadores de CO<sub>2</sub> para excluir el aire , y el vial es tapado e incubado por 5 días , chequeando diariamente el ennegrecimiento.

## 3. Tubos de Agar Disuelto

Este método desarrollado por la Nalco Chemical Co. usa tryptona como el único nutriente . Como el "Agar Deeps" , esta contiene sulfito de sodio como secuestrante de oxígeno.

El procedimiento de la prueba involucra poner los tubos en agua caliente para licuar el medio y después enfriarlos hasta que el medio alcance una temperatura de 40 a 45 °C antes de añadir la muestra. Pueden ser hechas disoluciones de hasta 10<sup>6</sup> . Los tubos son tapados y puestos para incubación por 3 días . Los resultados son interpretados por multiplicación del número contabilizado de colonias por el factor de dilución, para estimar el número de colonias por ml. de muestra.

En teoría, si uno o más tubos muestran ennegrecimiento general, entonces un siguiente número podría tener un número contable de colonias discretas. Donde este no fuera el caso, el último tubo ennegrecido debe considerarse como > 100 colonias . Por ejemplo, si una serie de 4 tubos es inoculada y los

dos primeros , se tornan negros pero los otros dos, no tienen colonias visibles , el resultado debe ser reportado como  $> 10^3$  col/ml.

#### **1.5.4.2 Métodos Directos**

Los métodos directos no requieren crecimiento de Bacterias Sulfato Reductoras durante la prueba. Sin embargo pueden medir directamente las Bacterias Sulfato Reductoras.

##### **1. Ensayo ATP**

Este método estima el número total de organismos, midiendo la cantidad de trifosfato de adenosina (ATP) en una muestra. ATP es un compuesto encontrado en toda la materia viviente. Litman ha propuesto que la técnica "ATP Assay" puede ser usada con muestras de agua del área de petróleo para estimar el número relativo de organismos presentes, incluyendo las BSR. El procedimiento requiere filtrar la muestra para remover los sólidos disueltos y sales que pueden interferir con la prueba. Esta muestra filtrada, es añadida a un reactivo que resalta las células ATP. Se añade una enzima especial que reacciona con ATP para ocasionar una reacción química fotoquímica , y el resultado es una luz estimada por un fotómetro. El número de celdas de bacterias es estimado por el número total de luces contadas.

##### **2. Epifluorescencia / Celdas Anticuerpos Superficiales**

Conocido como método ECSA, está basado en la adhesión de anticuerpos específicos a las Bacterias Sulfato Reductoras . Los anticuerpos, identificados con un cuerpo fluorescente, adhieren solo a sitios específicos sobre la superficie de las BSR ; cuando es visto bajo un microscopio epifluorescente , un anticuerpo unido a una celda , es identificado por un color verde fluorescente <sup>(24)</sup>

El procedimiento requiere calentar la muestra en una placa especial e incubarla por 20 min. con un primer agente anticuerpo primario.

Después la muestra es lavada para remover el exceso de anticuerpo, y es incubada por 20 min. con un segundo agente anticuerpo conteniendo el agente fluorescente . Entonces , la muestra es relavada y se añade un fluido

especial. El conteo es hecho a 1000 x de aumento dentro del aceite de inmersión. Este método fue desarrollado por D.H Pope en el Instituto Politécnico Rensselaer .

### **3. Anticuerpos APS Reductasa**

Conocido como método ARA, fue desarrollado por Du Pont Co. Involucra anticuerpos desarrollados frente a fosfosulfato-5-adenosina (APS) reductasa, una enzima interna encontrada en todas las BSR . La muestra es primero lavada para remover interferencias químicas como sulfuro de hidrógeno. Luego es tratada ultrasónicamente con una batería de poder, que rompe la célula de la bacteria y libera la enzima APS Reductasa.

El resto de la prueba tiene lugar dentro de la pipeta de transferencia de polietileno. La muestra es pasada de la pipeta a un glóbulo poroso. Esto es lavado cuatro veces. Si la enzima APS reductasa esta presente en la muestra (Indicando la presencia de BSR) , el glóbulo se torna azul dentro de 10 minutos. El grado de coloración , es proporcional a la cantidad de enzima en la muestra , y los resultados son leídos en una carta de colores proporcionada con el kit. La carta correlaciona el color obtenido con el número aproximado de BSR presentes.

#### **1.5.4.3 Comparación de los Métodos**

Ningun método es superior a otro en todos los aspectos. Por esta razón se sugiere el uso de los métodos mencionados en combinación para obtener mejores resultados

Los métodos de cultivo, en general, son capaces de detectar cantidades mas pequeñas de BSR que los métodos directos, aunque ellos son en cierto modo para determinadas especies.

Las botellas con el caldo de cultivo API RP-38 parecen ofrecer la mejor combinación de sensibilidad y exactitud cuando se trabaja con organismos que consumen lactato tales como la *Desulfovibrio desulfuricans*. La mejor práctica para resultados precisos es permitir 28 días de incubación ( como lo especifica la norma) en lugar de 14 a 21 días que es la practica común.

El método de más fácil aplicación en campo, entre los métodos de cultivo es el Agar Deep's, además ofrece resultados en menos tiempo que el medio API

RP-38. Sin embargo frecuentemente no correlacionan bien con otros métodos y suele dar falsas respuestas positivas con las BSR. Por estas razones, el uso de Agar Deeps es recomendado únicamente si este método es validado con los resultados obtenidos con el medio API RP-38.

Los tubos de agar disuelto parecen insensibles a cantidades pequeñas y grandes de BSR. Esta característica, unido a su tendencia a dar falsas respuestas positivas en la presencia de reductores de sulfato que no son BSR, nos indica una pobre utilidad para monitorear BSR.

Los resultados de los ensayos ATP no correlacionan bien con las BSR, se obtienen valores elevados en muestras de campo y valores inferiores en muestras puras de BSR. Por lo que los ensayos ATP son probablemente útiles únicamente en casos donde se desea un conteo total bacterial.

La técnica ECSA parece ser un método válido para la detección de BSR en muestra de campo, pero para obtener resultados precisos se requiere contar con personal altamente entrenado. Su límite más bajo de detección en muestras de campo es aproximadamente  $10^4$  colonias /ml.

El método ECSA no es válido para detectar especies de laboratorio de BSR y es inapropiado para evaluar muestras de campo con grandes cantidades de sólidos suspendidos. El método ARA es el más rápido y la única verdadera técnica de campo. Los resultados obtenidos con este método son generalmente comparables con los obtenidos por el medio API RP-38, sin embargo este método tiene un límite de detección de cerca de  $10^3$  colonias/ml.

### **1.5.5 Control**

Las bacterias *Desulfovibrio* pueden ser controladas por una combinación de cambios físicos y mecánicos y por tratamientos químicos como sigue :

#### **A).- Programas de Limpieza en Equipos y Líneas**

En la industria de petróleo es común el uso de raspatabos para disminuir el volumen de sólidos y a la vez también disminuir el contenido de Sulfuro de Hierro. Pero lo más tradicional en todas las industrias es la aplicación de chorros de agua a presión en combinación con algunos productos dispersantes o detergentes.

## **B).- Programas de inspección, mantenimiento y pintado**

Un ejemplo de aplicación se da en los tanques de almacenamiento de petróleo crudo, los cuales se someten a una limpieza para eliminar los sedimentos o borra de fondo, luego se realiza un arenado comercial para eliminar los productos de corrosión adheridos y permitir una mejor inspección, luego de haber reponenciado el tanque, se hace una arenado a metal blanco y luego pintado con pintura epóxica.

En las líneas de tuberías enterradas o sistemas similares, el uso de cubiertas protectoras se lleva a cabo en casos en que no es posible el uso de biocidas. Como condición fundamental debe establecerse para toda cubierta protectora:

- No debe ser atacada por bacterias
- No debe sufrir procesos de degradación que produzcan sustancias corrosivas.

## **C).- Modificaciones Operacionales**

Algunas veces es factible efectuar algunos cambios en el sistema tales como:

- Reducir puntos de baja velocidad o estancamiento
- Reducir el tiempo de manapipuleo del agua (water handling) al mínimo
- Utilización de filtros e iniciación de programas de limpieza de fondo para eliminar zonas muertas
- Mantener al mínimo el contacto del agua con la atmósfera
- En lo posible evitar el contacto o mezclar agua dulce y agua salada de formación, a pesar de que la Desulfobrio se encuentra comúnmente en el agua de formación, es un organismo que esta presente en aguas frescas.

La experiencia de campo señala que luego de un período de ajuste a las nuevas condiciones, la Desulfobrio crece más fácilmente donde se han mezclado aguas salada y frescas que en la fuente originalmente infectada. Aparentemente la menor salinidad de la mezcla resultante es el medio preferido.

- Modificar las características del ambiente donde se desarrolla el proceso de corrosión para hacerlo inadecuado al desarrollo de los microorganismos por

ejemplo la aireación para el caso de bacterias anaerobias, pH alejado del óptimo para el desarrollo, etc.

#### **D).- Esterilización Química**

El objetivo es destruir o inhibir el crecimiento o la actividad metabólica de los microorganismos mediante la adición de sustancias biocidas o bacteriostáticas al medio <sup>(14)</sup>. Estas sustancias deben cumplir con los siguientes requisitos

- Amplio espectro bacterial
- Capacidad de mantener su acción inhibidora, frente a otras sustancias presentes en el medio, en similares condiciones de temperatura y pH, no debiendo desarrollar tolerancia por parte del microorganismo.
- No ser corrosivo para el sistema donde debe usarse.



## 1.6 Interacción entre los microorganismos y la superficie metálica

El bioensuciamiento (biofouling) y la corrosión microbológica en sistemas industriales ocurren como consecuencia de procesos biológicos y electroquímicos producidos por microorganismos adheridos a las superficies metálicas bajo la forma de biopelículas (biofilms). Por tanto los elementos que se requiere que interaccionen son : el ente biológico, el metal y la solución.

Las películas biológicas formadas producen importantes modificaciones alterando las condiciones físico-químicas en la interfase metal/solución , formando barreras al intercambio de elementos entre la superficie metálica y el medio líquido circundante. El estudio y comprensión de estos procesos ayudará a prevenir o reducir el ensuciamiento en intercambiadores de calor, taponamiento de filtros, pérdidas de energía derivadas de la disminución en la eficiencia de la transferencia de calor, y en el crecimiento de la resistencia al flujo en sistemas industriales, además de todo lo anterior, alberga el problema potencial de la corrosión microbológica <sup>(5)</sup> .

### 1.6.1 Propiedades Características de las Bacterias

#### A).- Velocidad de Reproducción

En la fase exponencial de crecimiento, donde el tiempo de generación es constante, una bacteria típica, con un volumen de  $1 \mu\text{m}^3$  y un tiempo de generación de 20 minutos, produciría en tan solo 3 ½ horas, un incremento del número de células del orden de  $10^3$  .

#### B).- Relación Superficie / Volumen

Como ejemplo se puede considerar un cubo de 1 cm por lado, que en el caso de encontrarse dividido en  $10^{12}$  cubos de  $1 \mu\text{m}^3$  presenta una superficie activa 10000 veces mayor.

#### C).- Intercambio de materia con el medio

Si se considera que el área promedio de un hombre con respecto a su peso es  $0.24 \text{ cm}^2 / \text{gr}$  , para una bacteria la misma relación es de  $50\ 000 \text{ cm}^2 / \text{gr}$ . Esto

permite entender de que las velocidades de corrosión sean del orden de  $10^2$  ó  $10^3$  veces mayores en presencia de microorganismos que en su ausencia. En la mayoría de los casos el producto metabólico principal de muchos microorganismos, que participan en procesos de corrosión, son de naturaleza altamente agresiva para el metal como el ion sulfuro o bisulfuro (bacterias sulfatorreductoras), el ácido sulfúrico (bacterias oxidantes de azufre), los ácidos orgánicos (hongos contaminantes de combustibles), etc.

## 1.6.2 Adherencia Bacteriana y Bioensuciamiento

La evaluación de componentes antimicrobianas han estado basadas tradicionalmente en mediciones de eficacia contra los microorganismos que flotan libremente (planctónicos). Sin embargo, en los últimos años la atención ha sido dada a estudios de los efectos de los microorganismos los cuáles se adhieren a las superficies de diversa naturaleza, dando lugar al tipo de depósitos conocidos como biofouling (bioensuciamiento).

### A).- Factores Característicos

- Los microorganismos tienen una orientación selectiva hacia superficies donde materiales nutritivos (iones, macromoléculas y coloides) están concentrados en la interfase sólido-líquido, debido a que generalmente el nivel nutricional de muchos hábitats microbianos es demasiado bajo para sustentar un crecimiento activo.

- Modificación de la energía libre superficial de la interfase sólido-líquido por la adsorción espontánea de películas macromoleculares que adecuan la superficie a una colonización bacteriana posterior.

### B).- Fenómenos Adsorptivos

Los fenómenos adsorptivos son de gran importancia para los microorganismos en diversos medios, puesto que su fijación a la superficie sólida le permite beneficiarse con el estado nutricional enriquecido que se encuentra en la interfase sólido/líquido. En hábitats naturales muy deficientes en nutrientes, como los suelos y el agua, las superficies ofrecen los únicos sitios donde se encuentran niveles de nutrientes adecuados para sustentar el crecimiento microbiano.

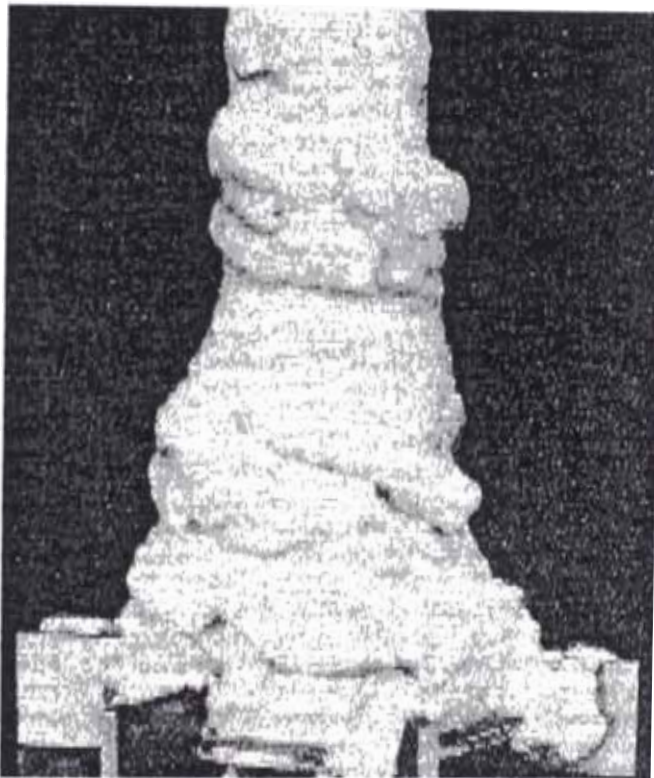
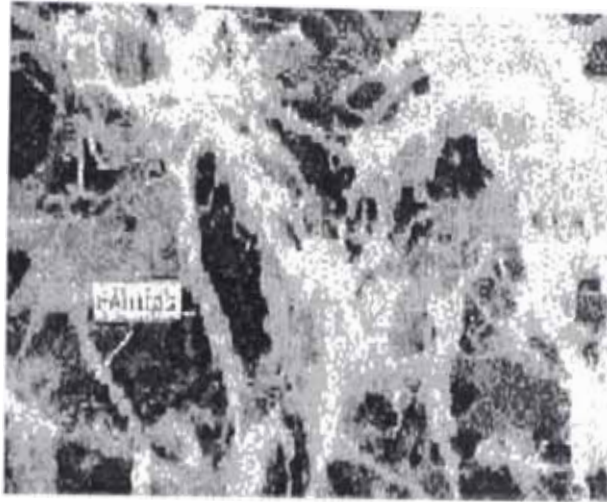
El movimiento de los microorganismos en el medio líquido de cualquier ecosistema puede ser activo (mediante flagelos o ciliadas) o pasivo (mediante corrientes o flujos diversos). Cerca de la interfase sólido líquido intervienen fuerzas de corto alcance (hidrofóbicas, coulombicas, de van der Waals) capaces de retener a los microorganismos sobre la superficie. No obstante, la remoción de los mismos es fácil en esta etapa denominada de **adsorción reversible**.

Por otra parte los microorganismos pueden adherirse fácilmente con exquisita especificidad a diversas superficies mediante una masa de fibras enmarañadas constituidas por polisacáridos de molécula ramificada las cuales se extienden desde la superficie bacteriana y forman un compacto glicocálix que conduce a la creación de hábitats especializados en muchos ecosistemas naturales ( **Ver figura 1.6.1** ). Algunos microorganismos capaces de adherirse permanentemente a diversos tipos de superficie presenta el fenómeno de **adherencia no específica**. Esta dependerá de las propiedades superficiales iniciales de la superficie sólida involucrada. Una **adherencia específica** involucra, por otra parte, una configuración molecular complementaria entre el sólido y la superficie bacteriana.

### C).- Microbiofouling

El término ensuciamiento o fouling puede definirse como el proceso indeseable que ocasiona depósitos orgánicos o inorgánicos sobre superficie. Cuando este ensuciamiento es responsabilidad principal de los microorganismos se le denomina **microbiofouling**. Mecánicamente, el ensuciamiento puede ser descrito como el transporte de células viables a una superficie y la subsecuentes ligación a la misma. Una vez ligada a la superficie, estas células deben experimentar metabolismo activo y crecimiento en orden para establecer una biopelícula ( **Ver figura 1.6.2** ). Los organismos en el film pueden producir polímeros extracelulares los cuales pueden servir para que entren otros detritos del ambiente circundante <sup>(8)</sup>.

Estos depósitos contienen no solamente colonias de microorganismos, sino también una combinación de sub-productos celulares, detritos y materias inorgánicas. Las biopelículas pueden causar una significativa pérdida de energía en sistemas de distribución de agua como resultado del incremento de la resistencia friccional al fluido.



( B )

**Figura 1.6.2 Películas Biológicas**

A) Polisacárido dextrano producido por bacterias, nótese la característica filamentosa de la masa de partículas pegajosas.

B) Desarrollo de la masa microbiana sobre un agitador en un fermentador de 20 lts.

En equipos de transferencia de calor, las biopelículas pueden disminuir la eficiencia de transferencia de calor; la conductividad térmica de una biopelícula y el agua son idénticas ( $0.63 \text{ watt}\cdot\text{M}^{-1}\cdot\text{°K}^{-1}$ ), para una biopelícula de este tipo de  $100\mu\text{m}$  de espesor, la conductividad térmica es de alrededor de una cuarta parte tan alta como la del carbonato de calcio y solamente la mitad de la analcita.

En aplicaciones críticas de enfriamiento tales como en los moldes de las fundidoras continuas y las toberas de los altos hornos, la conductividad térmica disminuída puede conducir a grandes esfuerzos térmicos transitorios <sup>(21)</sup>. Tales esfuerzos pueden producir agrietamientos por corrosión y fatiga. Adicionalmente, los depósitos biológicos son frecuentemente asociados con el incremento del nivel de corrosión.

Para que estas biopelículas se fijen, el esfuerzo cortante del fluido en la superficie debe estar dentro de un rango adecuado. La superficie debe ser compatible con los microorganismos en la biopelícula. En suma, una superficie áspera puede acentuar el potencial de ensuciamiento al proveer una área atractiva para la fijación de células. El establecimiento de una biopelícula también requiere la ausencia de técnicas de control de bioensuciamiento eficaces.

El rate de flujo puede limitar la formación o espesor de una biopelícula por dos procesos:

- (a) Erosión Hidrodinámica
- (b) Desprendimiento simple.

La erosión hidrodinámica es el proceso natural de desgastar una biopelícula por agua que fluye sobre su superficie. El rate de erosión hidrodinámica incrementa con la velocidad de flujo y con la espesura de la biopelícula. El desprendimiento es un proceso aleatorio por el cual partes de film son simplemente retiradas de la superficie. Este es un proceso que parece ser basado en las propiedades transitorias de los films. Puede estar involucrada una reducción de nutrientes de la parte profunda de las biopelículas. Un desprendimiento puede ser mas pronunciado en espesor en biopelículas con baja densidad aparente.

Dependiendo de las condiciones presentes, una biopelícula se desenvolverá a una velocidad que puede ser generalmente descrita por una curva con forma de "S" (Ver **figura 1.6.3 A**). A medida que las biopelículas inicialmente se

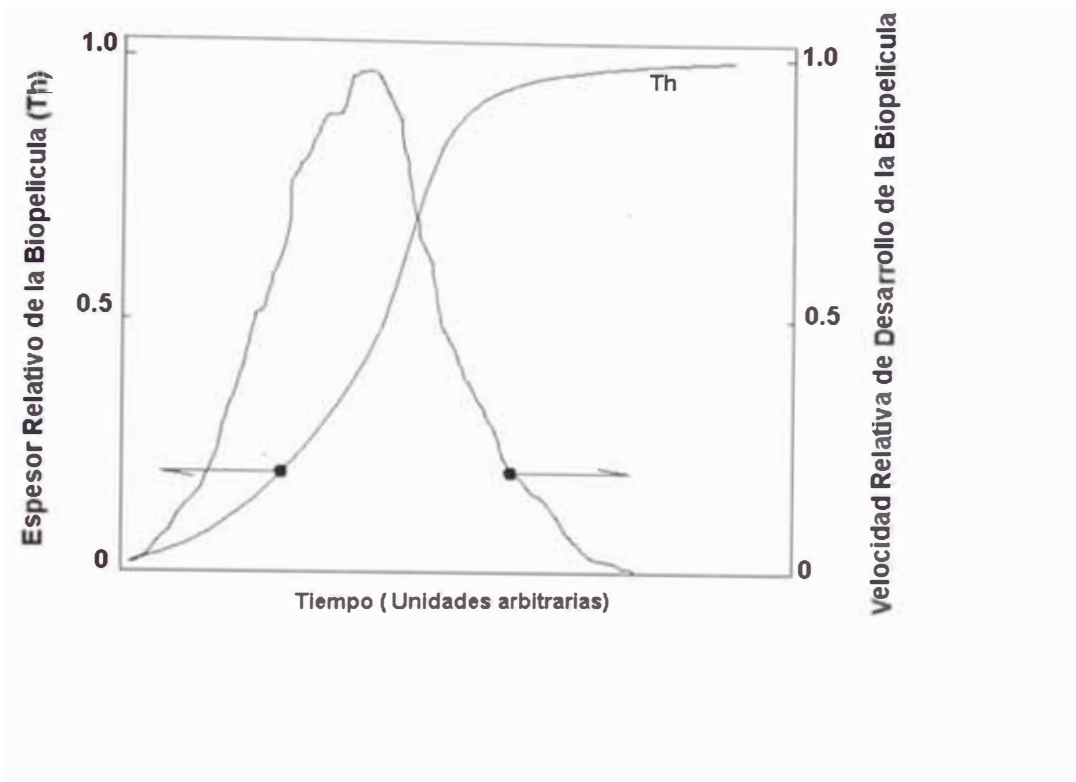
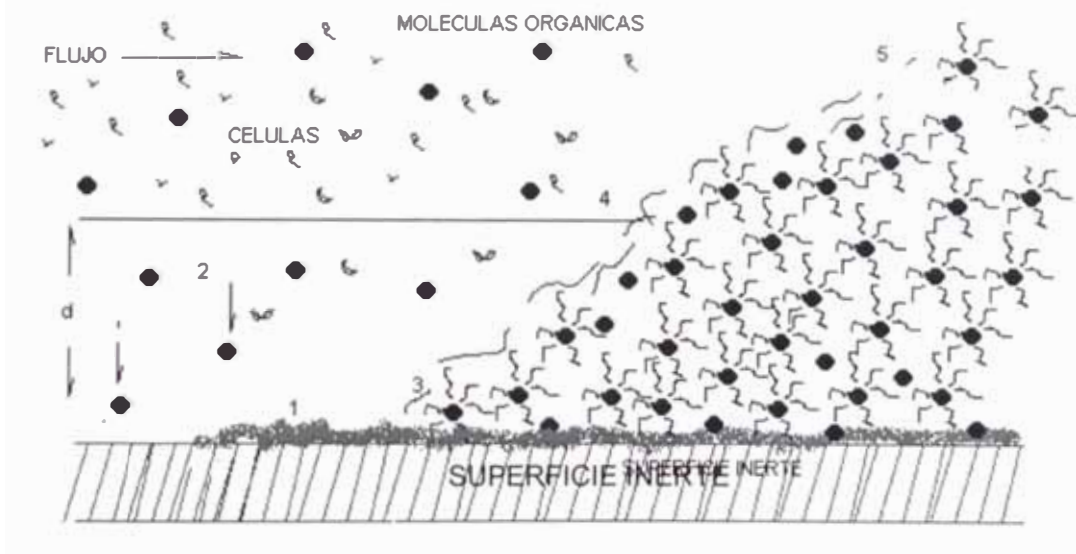


Figura 1.6.3 A El desarrollo de la red de biopelículas se representa por una curva en forma de "S". La velocidad de desarrollo de la biopelícula es la pendiente de la curva en forma de "S" en cualquier instante.



- 1) TRANSPORTE Y ADSORCIÓN DE MOLECULAS ORGANICAS
- 2) TRANSPORTE DE CELULAS MICROBIANAS
- 3) ADHESIÓN DE CELULAS MICROBIANAS
- 4) CRECIMIENTO DENTRO DEL BIOFILM
- 5) DESPRENDIMIENTO

Figura 1.6.3 B Esquema resumido de los procesos que contribuyen a la acumulación de crecimiento biológico

desenvuelven , el incremento del rate de biomasa es muy rápido. Conforme el film se aproxima a su espesura natural de equilibrio , el rate de desarrollo disminuye y se hace lento. El hecho de comprender la velocidad rate de desarrollo específico de un film es importante cuando se diseña un adecuado programa de control <sup>(12)</sup>

El espesor promedio de un microbiofouling puede encontrarse dentro de los 250 $\mu$ m. El desarrollo de una película de ensuciamiento biológico resulta de varios procesos que ocurren en serie y paralelo. Mecánicamente, la acumulación de ensuciamiento biológico resulta

- A. Del transporte de materia del seno del fluido a la superficie sólida y su adherencia a la misma
- B. Del metabolismo microbiano en la película
- C. De efectos de corte por el flujo del líquido en la superficie de la película
- D. De la naturaleza de la superficie y su rugosidad
- E. De tratamientos de control aplicados al bioensuciamiento

En la **figura 1.6.3 B** , el crecimiento de la película de ensuciamiento (biopelícula) resulta de los siguientes procesos físicos, químicos y biológicos:

1. Transporte de moléculas orgánicas y células microbianas hacia la superficie sólida.

En esta primera etapa la adsorción de moléculas orgánicas acondiciona la superficie metálica facilitando la posterior adherencia de las células microbianas. Estos procesos ocurren dentro de la capa límite ( $\delta$ ) de flujo laminar.

2. Metabolismo de las células adheridas resulta en un mayor número de células adheridos dentro de la película, así como en un incremento de material orgánico y metabolitos asociados a estas células <sup>(8)</sup>

3. Cuando la acumulación de material debido a los procesos de transporte , adherencia y crecimiento supera la capa límite  $\delta$  , comienza el proceso de desprendimiento de ciertas partes de esa biopelícula por el efecto de corte del flujo líquido.

### 1.6.3 Corrosión Microbiológica

La corrosión microbiológica es un fenómeno de destrucción en el cual los microorganismos, ya sea que actúen directamente o por medio de las sustancias provenientes de la actividad química de su metabolismo (crecimiento y

reproducción), desempeñan un papel muy importante al acelerar un proceso ya establecido o al crear las condiciones favorables para que se produzca.

Los microorganismos participan en este proceso sin modificar la naturaleza electroquímica del fenómeno, y en todos los casos se encuentra una zona anódica donde se produce un proceso de oxidación que conduce a la disolución del metal (corrosión), mientras transcurre simultáneamente la reducción de algún componente del medio a través de la correspondiente reacción catódica <sup>(19)</sup>.

Los microorganismos contribuyen con los procesos de corrosión

- Generando sustancias corrosivas, originadas en su desarrollo o metabolismo, cambiando un medio inicialmente inerte en agresivo.

Ejemplo: La bacteria *Thiobacillus Thio-oxidans* produce como metabolito final  $H_2SO_4$  originando acidez local de pH 0.5

- Formando celdas de aireación diferencial por efecto de un desigual consumo de oxígeno en zonas localizada;

Ejemplo: Corrosión en las paredes internas de un conducto de agua debido a la formación de un tubérculo por bacterias oxidantes de hierro del género *Gallionella*.

- Generando Despolarización Catódica asociado con el crecimiento anaeróbico.

Ejemplo: Las Bacterias Sulfato Reductoras (Género *Desulfovibrio*) remueven el hidrógeno de los sitios catódicos debido a que poseen enzimas capaces de convertir el hidrógeno molecular en hidrógeno atómico

- Cambiando la concentración de sales, pH, las cuáles establece celdas electroquímicas localizadas.

Ejemplo : Las bacterias nitrificantes son capaces de oxidar el Amoniaco a nitrato, la actividad biológica reduce el pH y la concentración del oxígeno descende .

- Generando la presencia de biomasa o residuos tales como depósitos de sales higroscópicas.

Ejemplo: Las bacterias formadoras de babazas (slime) desarrollan películas a partir de sus desechos, constituyendo una masa de polímeros extracelulares que se mezclan con desechos orgánicos, sales insolubles, sólidos, agua, etc. En suma esta masa contribuye a la formación de celdas de aireación diferencial y al ataque pasivo (Corrosión por oxígeno).

- Destruyendo cubiertas protectoras sobre el metal, que son metabolizadas por los microorganismos.



Ejemplo: Algunos materiales de los recubrimientos constituyen un alimento ideal para los hongos y bacterias como el asfalto, alquitrán, papel kraft y ciertos rellenos (fillers), pastas (binders) o cobertores (wrappers).

- Consumiendo sustancias inhibitoras de la corrosión y facilitando de esta forma la acción de iones agresivos presentes en el medio o producidos por su metabolismo microbiano.

Ejemplo : Actualmente el tratamiento químico a base de productos de origen orgánico (inhibidores de corrosión y anti-incrustantes) han permitido la existencia de fosfatos, fosfonatos, y otros polímeros que sirven de nutrientes a las bacterias nitrificantes, depositadoras de hierro, hongos, etc.

Los microorganismos que intervienen en estos procesos habitan en gran variedad de sistemas naturales en condiciones ambientales muy diversas, sobreviviendo en presencia de nutrientes muy bajos. Estos constituyen un conjunto de seres unicelulares, muy rudimentarios extendidos por toda la biosfera y desempeñan un papel importante en la naturaleza que es el de descomponer activamente las materias orgánicas y minerales cumpliéndose los ciclos naturales del carbono, nitrógeno y azufre.

El crecimiento microbiológico origina celdas de corrosión, los subproductos de algunos organismos son corrosivos. Los casos de corrosión debido a ello son muy variados y es factible encontrar casos de corrosión microbiana en ambientes tan diferentes como suelos, agua de mar y agua dulce, sistemas industriales de enfriamiento, tanques de almacenaje de combustible, cubiertas asfálticas, estructuras de piedra, etc.

### 1.6.3.1 Desarrollo Histórico

La influencia de los microorganismos sobre los procesos de corrosión de metales la sugirió Garret en las postrimerías del siglo pasado (1891), refiriéndose a la acción corrosiva sobre el plomo del amoníaco, nitratos y nitritos producidos por las bacterias.

En 1910, Gaines estableció que la corrosión de hierro en suelos puede deberse a la asociación de diversos tipos de bacterias, en especial aquellas vinculadas al ciclo de azufre (bacterias reductoras de azufre y oxidantes de azufre) y ferrobacterias.

En 1919, Ellis y Harder informaron la formación de depósitos en cañerías de agua por ferrobacterias.

En 1923, Von Wolzogen Kühn describió el importante papel que desempeñaron las bacterias sulfato reductoras como causantes directos de la corrosión.

En 1934, Von Wolzogen Kühn y Van Der Vlugt propusieron un mecanismo para explicar la acción de las bacterias reductoras de azufre, en ausencia de oxígeno, sobre cañerías de hierro enterradas en suelos anegados. La teoría propuesta por estos autores se basa, fundamentalmente en la acción directa de las bacterias anaerobias del género *Desulfovibrio* sobre la cinética del proceso de corrosión a través de un mecanismo de despolarización catódica <sup>(20)</sup>. La mayoría de la bibliografía sobre la corrosión de metales por microorganismos se destinó al estudio de este mecanismo para la corrosión del hierro y acero en medios anaeróbicos neutros.

En los últimos 15 años se prestó atención a los problemas de corrosión de aluminio y aleaciones en medios anaeróbicos y aeróbicos, como consecuencia de la severa corrosión observada en aleaciones de aluminio en contacto con combustibles derivados de petróleo, particularmente en tanques y alas de aviones a retropropulsión.

Los problemas de corrosión microbiológica afecta generalmente a numerosas industrias, tales como la extractiva de petróleo en los procesos de recuperación secundaria, la industria del papel, la alimentaria, aeronáutica, naval, etc. Sólo en la última década se comenzó a estudiar los complejos casos de corrosión microbiológica, procurando relacionar los aspectos biológicos y electroquímicos que intervienen en el proceso de corrosión y a través de este tipo de estudios, así como de aquellos relacionados con los procesos de adherencia e interacción de microorganismos con superficies, se avanzó en la comprensión de este tipo de corrosión que involucra variables de naturaleza tan diversa.

### **1.6.3.2 Factores que influyen en la Corrosión Microbiológica**

En términos generales, puede decirse que estos factores son de tres tipos:

- A. El estado en que se encuentra el material
- B. La influencia del medio
- C. La acción de los microorganismos

## A. El estado en que se encuentra el material

Este aspecto es muy importante; la estructura, las alteraciones de la superficie (por mínimas que estas sean) o el deterioro mecánico que presenta el metal corresponde a factores que permiten que se inicie el proceso de corrosión microbiológica.

Una vez iniciado el fenómeno se observa la acción que posteriormente desempeñan las bacterias.

## B. La composición del medio

**1. La composición química del agua** desempeña una función de primer orden. El contenido de oxígeno y de gas carbónico en esta llevará a la formación de óxidos y de carbonatos, especialmente en los puntos que presentan deterioro. Además el oxígeno favorecerá el desarrollo de los microorganismos aerobios y, por otra parte, el gas carbónico servirá como fuente de carbono a las bacterias autótrofas.

La presencia de iones minerales, nitrógeno, fósforo, azufre, hierro, manganeso, calcio, etc., en forma de nitratos, fosfatos, sulfatos o sulfuros, aportará los oligoelementos (elementos escasos) necesarios para el crecimiento de las bacterias. Así las bacterias utilizarán dichos oligoelementos para su propia síntesis u obtendrán de la transformación de oligoelementos la energía necesaria para su metabolismo.

Del mismo modo las bacterias quimioorganótrofas utilizarán los compuestos orgánicos.

De hecho, todas las aguas distribuidas en la naturaleza y que no han sufrido alteración, presentan un contenido de sales minerales y de materias orgánicas que permite el crecimiento de las bacterias.

**2. Temperatura.** Cada microorganismo tiene una temperatura óptima en la cual su desarrollo se acelera, y dicha temperatura se encuentra por lo general alrededor de 25 °C a 30 °C . Por el contrario, ciertas esporas pueden resistir temperaturas mucho más bajas o mucho más altas .

**3. El pH.** Desempeña una función importante. La acidez o la alcalinidad del medio tienen al principio una acción directa sobre el metal y luego, de acuerdo

con el grado que presentan, favorecen o inhiben el desarrollo de las bacterias. En general, el pH óptimo se encuentra alrededor de la neutralidad. A pesar de ello, ciertos gérmenes, como por ejemplo los *Thiobacillus*, se adaptan muy bien a un pH próximo a 1.

Además dichos gérmenes al "secretar" ácido sulfúrico consiguen cambiar de manera significativa el pH del medio, que se vuelve entonces muy corrosivo para el metal.

**4. La luz.** La luz condiciona el desarrollo de las bacterias fotolitótrofas y, asimismo, de las fotoorganótrofes.

Las primeras utilizan sustancias inorgánicas oxidables (minerales) como donadores de electrones con ayuda de energía radiante, las segundas utilizan substratos orgánicos oxidables como donadores de electrones con ayuda de energía radiante.

### C. Los microorganismos

Entre los principales microorganismos destacamos principalmente:

#### - **Ferrobacterias.**

Obtiene energía necesaria para su síntesis a partir de la transformación de las sales ferrosas en sales férricas

#### - **Sulfatoreductoras**

Transforman los sulfatos en ácido sulfhídrico, el cual se combinará con las sales ferrosas para dar un sulfuro de hierro.

#### - **Sulfobacterias**

Metabolizan el azufre a partir de compuestos azufrados reducidos y lo expulsan, lo almacenan o bien lo oxidan. Generando lodos o produciendo una acidificación corrosiva.

#### - **Hongos**

Causan importantes daños por sus actividades enzimáticas, las cuáles se manifiestan por el deterioro biológico de los derivados celulósicos o plásticos,

de cuyos productos pueden hacerse cargo algunas bacterias. En el medio además los hongos secretan numeroso ácidos orgánicos.

#### **- Algas**

Se trata de organismos que proporcionan la materia orgánica necesaria para el crecimiento de los otros microorganismos. Como sucede en el caso de los hongos, también las algas secretan enzimas que atacan numerosos substratos, madera, papel, etc, y que pueden así mismo metabolizar sustancias ácidas corrosivas.

### **1.6.4 Mecanismo de la Corrosión Microbiológica**

#### **1.6.4.1 Corrosión del Hierro y aleaciones**

##### ***A).- En ausencia de oxígeno***

##### **A.1 Teoría de la Despolarización Catódica**

##### **A.1.1 Polarización Catódica**

Para poder entender el fenómeno de polarización catódica se explica a continuación el proceso de corrosión en presencia de oxígeno. La formación de hidróxido férrico (herrumbre) implica la existencia de los siguientes elementos : Hierro metálico, humedad y oxígeno.

En los puntos en los que el Hierro presenta imperfecciones se forman diferencias de potencial las cuáles provocan pasos de corriente a través del líquido que se encuentra entre esas diferentes partes del metal. En realidad se forman pequeños elementos primarios, en las zonas anódicas, la corriente pasa del metal al líquido y por el contrario, en las zonas catódicas, la corriente pasa del líquido al metal. De este modo se observa una disolución de metal en el ánodo y la formación de hidrógeno en el cátodo.

El lugar sobre la superficie del metal donde el hierro corroído pasa de su forma metálica al estado iónico y se introduce en la solución se llama ánodo. La reacción anódica puede ser descrita como sigue :

### Anodo



Los dos electrones liberados en el ánodo son transferidos a través del metal a un lugar adyacente llamado cátodo o área catódica. En el cátodo estos dos electrones se combinan en el ión hidrógeno ( $\text{H}^{+}$ ) presente en la fase húmeda y forman hidrógeno atómico (H) el cual es liberado como moléculas de hidrógeno gaseoso ( $\text{H}_2$ ) . La reacción se escribe como sigue :

### Cátodo



Existe también una interacción entre los productos de las reacciones anódica y catódica. El hidróxido ferroso resultante de la combinación del ion hidróxilo formado en el cátodo, con el ion ferroso formado en el ánodo . Esta puede ser escrita como sigue :



El hidróxido ferroso puede ser nuevamente oxidado a hidróxido férrico (herrumbre) por disolución adicional de oxígeno en la solución (electrolito) .



La reacción en el cátodo resulta en la formación de burbujas de hidrógeno molecular formados sobre la superficie del cátodo, formando una película.

Así, esta película a escala molecular, crea un potencial de oposición suficiente para neutralizar "la pila", ocasionando una disminución de la

velocidad de corrosión , o detenerla completamente, este fenómeno es llamado ***Polarización Catódica*** ( Ver figura 1.6.4 )

Al polarizarse los elementos, la corrosión se suspende. En esta etapa del proceso se observa una ligera capa de herrumbre que afecta el metal y dicho estado de equilibrio puede durar mucho tiempo , en tanto el oxígeno no movilice el hidrogeno catódico <sup>(30)</sup>.

El oxígeno disuelto en el electrolito neutral, reacciona con el hidrógeno acumulado para formar agua y esto permite que el proceso de corrosión continúe. Al hacer esto se dice que el oxígeno actúa como un **despolarizador catódico**.

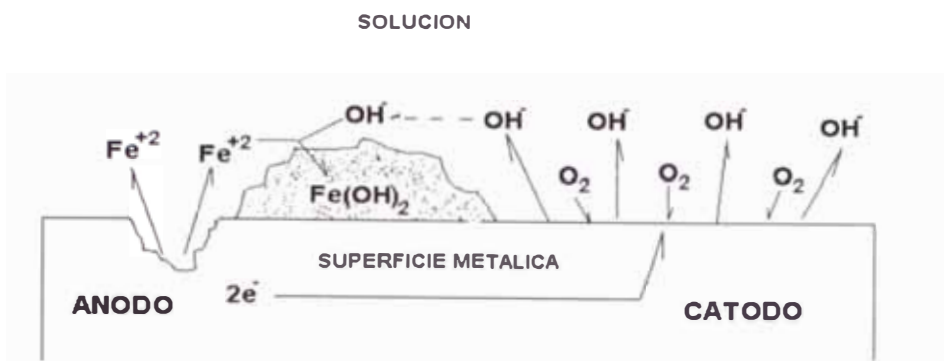
Para el caso de la corrosión inducida por Desulfovibrio, las condiciones anaeróbicas hacen que el mecanismo de corrosión sea diferente, sin embargo el principio Polarización Catódica y despolarizador catódico, es básicamente el mismo <sup>(35)</sup> .

### **A.1.2 Mecanismo**

La posibilidad de que se produzca una reacción directa de oxidación del hidrógeno por oxígeno gaseoso o disuelto no son factibles sin aireación. Por otra parte, la reacción alternativa de desprendimiento de hidrógeno difícilmente pueda ocurrir en un pH cercano a la neutralidad, donde la diferencia de potencial es demasiado pequeña para superar el sobrepotencial del hidrógeno <sup>(17)</sup> . Es a partir del trabajo de von Wolzogen Kühn y van der Vlugt (1934) en donde plantean la teoría de despolarización catódica

Toda sustancia o mecanismo que utilice el hidrógeno catódico despolarizará el sistema y la corrosión ocurrirá de nuevo. Es en esta etapa cuando intervienen las ferrobacterias y las bacterias sulfatorreductoras.

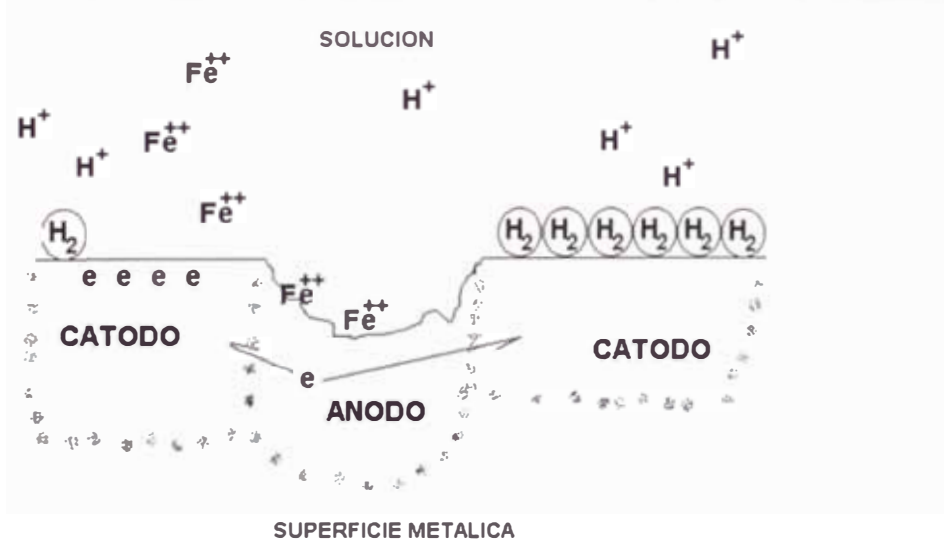
En la parte correspondiente al ánodo las ferrobacterias obtienen su energía de la transformación de sales ferrosas en sales férricas y provocan la formación acelerada de herrumbre, con lo cual rompen en



Las reacciones que ocurren son :



En ausencia de oxígeno , iones  $\text{H}^+$  participan en la reacción en el cátodo en lugar del oxígeno y completa el circuito eléctrico :  $2\text{H}^+ + 2e = \text{H}_2$ . Este fenómeno se esquematiza a continuación :



Aquí ocurre el fenómeno de polarización catódica, debido a que se forma una película de burbujas de gas ( $\text{H}_2$ ) sobre el cátodo disminuyendo la velocidad de corrosión.

**Figura 1.6.4** fenómeno de corrosión en superficies de Fierro Metálico

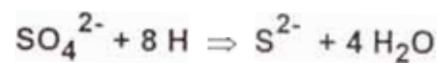


forma continua el equilibrio por despolarización anódica y catódica simultáneamente <sup>(26)</sup>

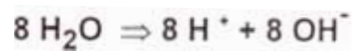
Este proceso produce la disolución continua del metal y llega hasta la perforación del mismo.

En la parte correspondiente al cátodo las bacterias sulfato reductoras movilizan el hidrógeno y provocan una despolarización catódica.

### 1. Reducción de los sulfatos :



### 2. Disolución electrolítica del agua :



### 3. Despolarización Anódica

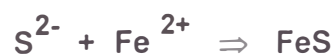


### 4. Despolarización Catódica



Aquí actúa la Hidrogenasa como agente despolarizador

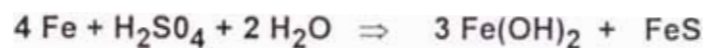
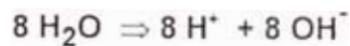
5. Los iones de sulfuro van a reaccionar a la altura del ánodo con una parte de los iones ferrosos puestos en solución



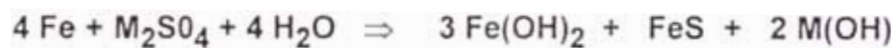
6. Otra parte de los iones ferrosos va a combinarse con los iones oxidrilos.



En consecuencia se puede escribir de una manera global,



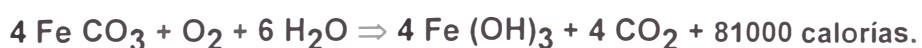
Nota.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  se toma aquí por razones de facilidad, en realidad se tiene:



Estas reacciones corresponden a la vida autotrofa del Desulfovibrio desulfuricans, sin la intervención de ninguna materia orgánica. Pero el átomo de azufre puede servir también como aceptador de electrones para la oxidación de ciertas sustancias orgánicas. Como ya se ha visto, esta oxidación nunca es completa y conduce a la formación de ácido acético. Se trata por esta razón de un organismo que es también quimiorganotrofo.



y también



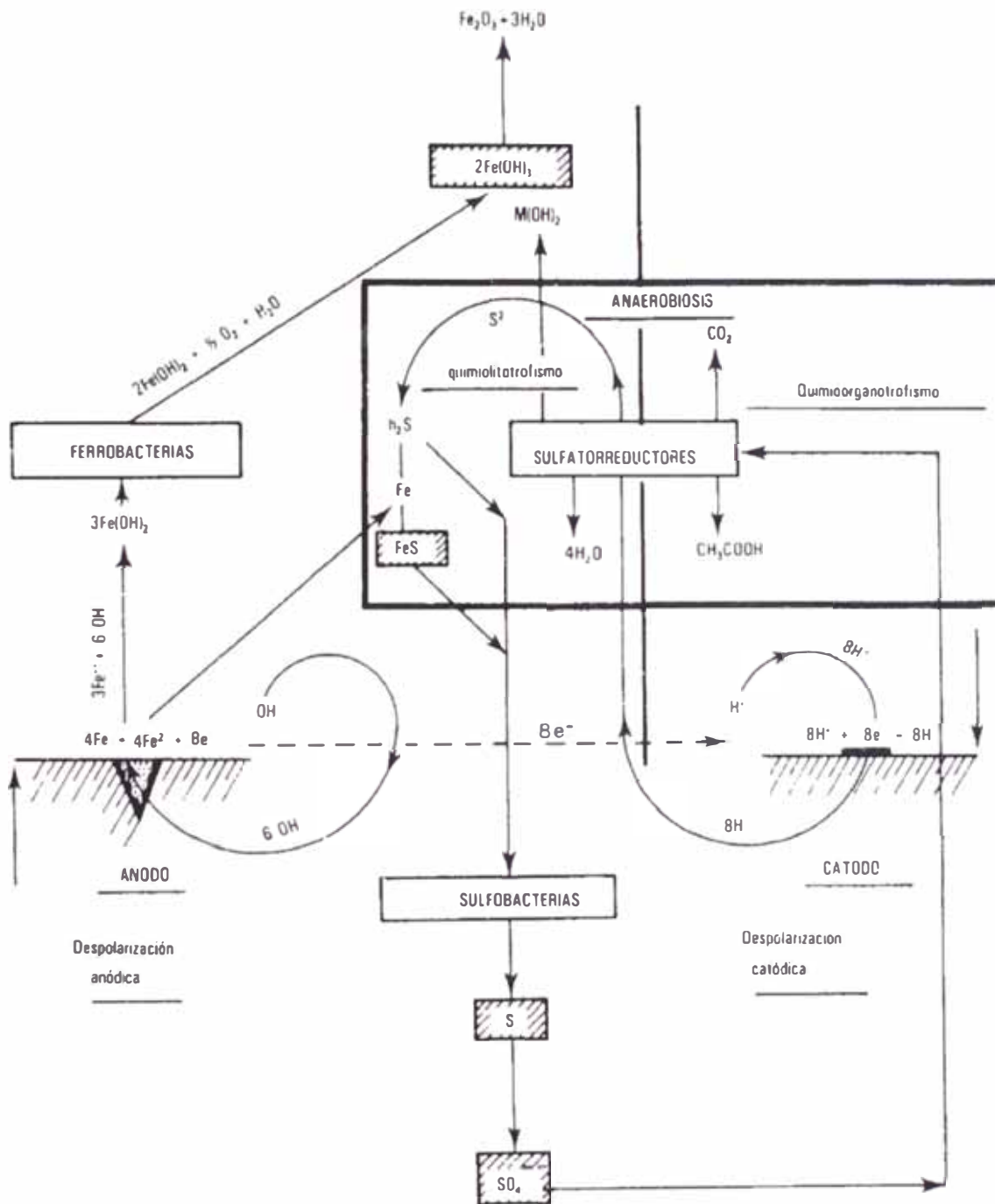


Figura 1.6.5 Esquema de la Biorrosión

El esquema de la **figura 1.6.5** pone en evidencia todas las reacciones debidas a las ferrobacterias, y a las bacterias sulfatorreductoras, pero las reacciones provocadas por las sulfobacterias no intervienen directamente en el proceso de corrosión, aunque si modifican el medio ambiente.

### **A.1.3 Discusión de la Teoría de Despolarización Catódica**

La mayor parte de la literatura sobre la corrosión microbiana ha estado relacionada a favor y en contra de esta teoría y a sido bien revisada en los últimos años por Miller y King, Miller, Davis, Iverson, Costello y Trpathi <sup>(16)</sup>

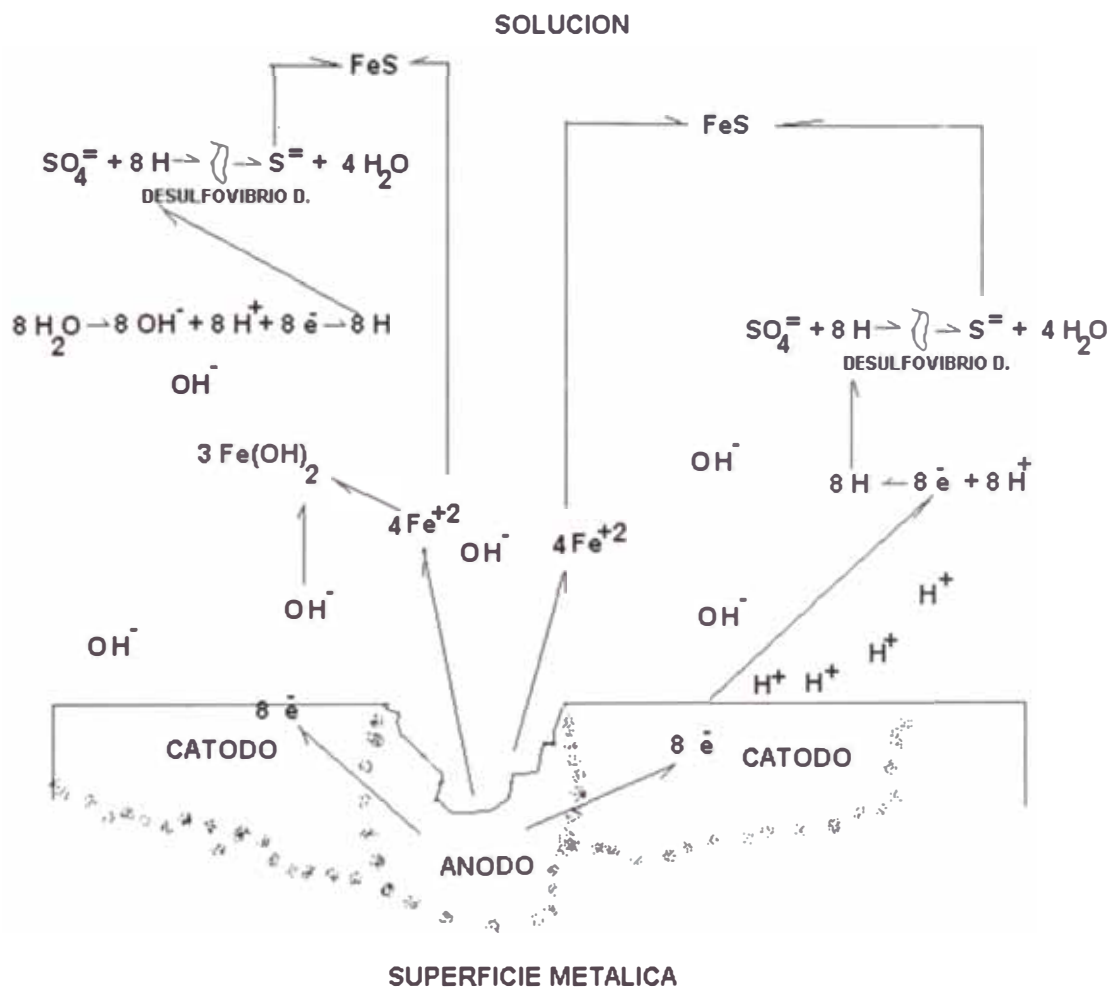
En estudios posteriores realizados por Booth y Miller se encontró una relación directa entre la actividad de la hidrogenasa, la actividad de despolarización catódica (por mediciones de polarización catódica) y la pérdida de peso de cupones de acero dulce. Estos estudios fueron hechas usando cultivos batch de bacterias sulfatorreductoras. A continuación algunas hipótesis planteadas en estudios posteriores en torno a la Teoría de Despolarización Catódica propuesta por Kühr y Vlugt , la misma que se muestra graficamente para superficies metálicas en la **figura 1.6.6**.

#### ***- Sulfuro de Fierro como un agente despolarizador***

En trabajos posteriores usando cultivos continuos y semicontinuos, Booth no encontró relación directa entre la actividad de la hidrogenasa y la velocidad de corrosión. Usando altas concentraciones de iones ferrosos en el medio, Booth encontró que ambas, hidrogenasa positiva y especies negativas producen velocidades de corrosión altas del orden de 40 mpy. Debido a que no encontró formación de película, Booth postuló que el sulfuro de fierro por si mismo causó la despolarización catódica.

Esta estimulación en la velocidad de corrosión había sido observada anteriormente por Adams y Farrer.

Mara y Williams plantearon que el sulfuro de fierro global estaba involucrado, actuando como un cátodo y absorbiendo hidrógeno en proporción a los defectos catiónicos en el sulfuro de fierro.



Aquí ocurre el fenómeno de Despolarización Catódica, la bacteria funciona como un despolarizador catódico al activar el hidrógeno del cátodo evitando así la formación de una película protectora.

**figura 1.6.6 Diagrama de la Corro ión Bacterial del fierro o acero por De ulfovibrio De ulfurican**

**- Acción conjunta del Sulfuro de Hierro y la hidrogenasa como un agente despolarizador**

King reportó que el sulfuro de hierro era más corrosivo que lo previsto por el mecanismo de Wolzogen, y había anteriormente postulado que la bacteria sobre la superficie del sulfuro de hierro continuamente lo regeneraba o despolarizaba por la remoción de hidrógeno atómico como resultado de la actividad de la hidrogenasa. Una posibilidad adicional, sugerida por Miller, es que el sulfuro de hierro nuevamente formado, como resultado del movimiento físico por colonias bacterianas, originó que superficies frescas de sulfuro de hierro sean llevadas a tener contacto constante con el metal.

**- Sulfuro de Hidrógeno como un agente despolarizador**

Costello, propuso un mecanismo diferente al anteriormente mencionado, según el cual la actividad de despolarización catódica de las Bacterias Sulfato Reductoras era debido a la actividad catódica del sulfuro de hidrógeno producido por estos organismos.

## **A.2 Teoría del Metabolito Corrosivo**

En contraste con las teorías de polarización catódica por hidrogenasa, por sulfuro de hierro, sulfuro de hierro e hidrogenasa o sulfuro de hidrógeno, Iverson, presentó evidencias que indicaban que la causa principal de la corrosión anaeróbica por bacterias es el producto metabólico altamente corrosivo producido por la bacteria sulfato reductora. Para que la corrosión ocurra por este mecanismo, el metabolito corrosivo debe tener acceso a la superficie desnuda del hierro.

Los estudios realizados por Iverson indicaron la formación de un alto contenido de metabolitos corrosivos, adheridos a la superficie del hierro iniciando la corrosión. Si la superficie de hierro fuese cubierta con una película de sulfuro de hierro, el proceso de corrosión podría ser inhibido. De esta manera la suerte del hierro en contacto con las bacterias sulfato reductoras bajo condiciones anaeróbicas, dependerá de cual metabolito

desarrolle primero sobre la superficie del hierro. Si el metabolito corrosivo desarrolla primero ocurrirá corrosión, pero si el sulfuro de hidrógeno fuese el primer metabolito sobre la superficie y formase una película, la corrosión se detendría hasta que la película de sulfuro de hierro se rompiera.

#### **B).- Por aereación diferencial**

Una de las formas de concentración más frecuente es la originada por la existencia de variaciones en la concentración de oxígeno o de iones en la superficie metálica, lo cual ocasiona corrientes localizadas. Si un microorganismo se sitúa en las vecindades de una cañería, se crea una celda de aereación diferencial entre las partes de la estructura donde el oxígeno es consumido por las bacterias y aquellas donde la concentración de oxígeno no se modifica <sup>(23)</sup>. Las zonas sin oxígeno se comportan anódicamente respecto de las restantes, y son centros potenciales de ataque al metal. Una de las formas de corrosión más frecuentes asociadas a este tipo de mecanismo es la que corresponde a la formación de tubérculos en el interior de las cañerías de distribución de agua, cuyos responsables son las bacterias oxidantes de hierro (*Gallionella*), que oxidan el ion ferroso en solución a ion férrico ocasionando la precipitación de hidróxido férrico que forma excrecencias en el interior de las cañerías, conocidas como **tubérculos**.

Olsen y Szybalski establecen experimentalmente las condiciones de corrosión del interior del tubérculo mediante una celda de aereación diferencial artificial. A nivel de laboratorio, el papel decisivo de las bacterias oxidantes de hierro es fundamental para la formación de tubérculos, aunque no ocurra en el establecimiento de las condiciones de anaerobiosis en su interior.

Estudios posteriores encuentran la frecuente asociación de BSR en la zona aeróbica interna del tubérculo. Butlin informa que, una vez desprendida una formación tubercular de este tipo, pudieron encontrarse sulfuros en su base en concentraciones del orden de 1.5 a 2.5 % y hasta 1000 colonias por gramo.

### 1.6.4.2 Corrosión de Metales No Ferrosos

#### A).- Aluminio y aleaciones

El problema de la corrosión microbiológica del aluminio y aleaciones en sistemas agua/combustible, es uno de los casos de corrosión microbiológica mas estudiados por su importancia tecnológica y su incidencia económica

Se propusieron diversos mecanismos para explicar la corrosión microbiológica de las aleaciones de aluminio de uso aeronáutico.

Miller atribuye especial importancia el establecimiento de celdas de aereación diferencial localizadas entre la zona de la aleación cubiertas por el micelio del hongo, y las zonas descubiertas como consecuencia del consumo de oxígeno por el microorganismo. En coincidencia con esta teoría, Iverson informa sobre la existencia de tubérculos similares a los hallados en las tuberías de fierro pero, constituidos en este caso, por la asociación simbiótica del hongo cuyo micelio provee la estructura del tubérculo y bacterias aeróbicas del género *Pseudomonas* y anaeróbicas del género *Desulfovibrio*. En este caso la corrosión ocurre como consecuencia de la formación de celdas de diferente concentración de oxígeno, además de un efecto de despolarización catódica por las bacterias sulfatorreductoras. Hedrick postuló la posible acción de las enzimas extracelulares que utilizarían determinados átomos de la superficie metálica. Su teoría se basa en la correlación hallada entre la magnitud del ataque y el contenido de magnesio de diversas aleaciones utilizadas en la industria aeronáutica.

Sin embargo últimos estudios interrelacionan parámetros electroquímicos mas utilizados en corrosión localizada, como el potencial de picado y el potencial de corrosión a circuito abierto, con las variables ligadas al crecimiento microbiano como el pH y numero de microorganismos.

Estos trabajos muestran que los metabolitos del *Cladosporium resinae* facilita el ataque provocando un descenso en el potencial de picado, además lo iones cloruros presentes en el agua contaminante de los combustibles muestran ser el principal agente agresivo responsable del picado. Los productos metabólicos del *C. resinae* facilitan el ataque del metal por los iones cloruro, disminuyendo la película superficial pasiva/electrolito y el potencial de picado de la aleación. Por otra parte la demanda metabólica de nitrógeno y fósforo presentes en el medio como iones  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{PO}_4^{-3}$  modifica la velocidad de corrosión a través



del consumo de estos iones de reconocida acción inhibitoria. La composición iónica del medio de cultivo o del agua contaminante del combustible reviste, entonces, gran importancia especialmente respecto a la relación de ion cloruro/ion inhibitor presentado en el medio.

### **B).- Otros metales**

Denison y Romanoff demuestran que el cobre, el cinc y el plomo experimentan una rápida corrosión en condiciones reductoras similares a las halladas en los suelos con las BSR.

El ataque del cobre y aleaciones por el amoníaco producido por el catabolismo proteico fue informado por Bengogh y May, y recientemente por Brisou.

Guillaume, Grimaudeau y Valensi estudian la corrosión del cobre y níquel en presencia de agua de mar y agua dulce, encontrando que la muerte de la bacteria acelera el proceso, mientras que la bacteria viva ejerce una acción protectora.

## **1.6.5 Programas de Monitoreo para la Biocorrosión y Bioensuciamiento**

### **1.6.5.1 Corrosión y Bioensuciamiento en ambientes industriales**

Una planta industrial contiene varios ambientes donde los procesos de corrosión y bioensuciamiento son un problema potencial : sistemas de enfriamiento industrial, tanques de almacenamiento, plantas de tratamiento de agua y efluentes, filtros y tuberías. Así mismo, el bioensuciamiento puede presentarse en estructuras de barcos, membranas de osmosis inversa, diferentes medios porosos, reservorios de combustible , y sistemas de distribución de agua potable. Diferentes condiciones operacionales se pueden presentar en el sistema : flujos turbulentos, aguas estancadas en superficies llanas o corrugadas sobre metales, concreto, plásticos y otros numerosos materiales estructurales. La Corrosión es uno de los resultados indeseables del ensuciamiento (fouling), y a esto habría que agregar la pérdida de energía causada por el incremento de la transferencia de calor y la resistencia a la fricción.

Los sistemas de agua de enfriamiento de recirculación provee un buen ejemplo de un ambiente industrial donde los riesgos de corrosión, y bioensuciamiento son particularmente críticos y necesitan ser mantenidos bajo control. En estos sistemas las pérdidas de agua por evaporación preponderan el efecto concentración haciendo que un nivel de nutrientes bajo se eleve concentrandolo. El tiempo de residencia, la temperatura del agua y la relación volumen/superficie son generalmente muy altos. En consecuencia se espera un alto crecimiento microbiano (número de células).

Hasta los 80's, muchos tratamientos típicos de aguas de enfriamiento consistían en el uso de mezclas sinérgicas de inhibidores de corrosión catódicos y anódicos tales como cromato y zinc, raramente combinado con fosfatos y polímeros para aliviar los efectos agresivos de agua concentrada.

El control de las incrustaciones se ejecutaba por adición de ácido sulfúrico para transformar bicarbonatos insolubles en sulfatos mas solubles. Los posibles efectos de deterioro del bajo pH (entre 6 y 7) usado en estos programas de tratamientos de agua, fue apropiadamente contrarrestada por los inhibidores de corrosión. mientras que el ensuciamiento microbiano fue mantenido a bajos niveles por uso de cloro, ocasionalmente combinado con componentes de pentaclorofenol y amonio cuaternario.

Desde el comienzo de la década pasada, se produjo un cambio drástico en las estrategias de tratamiento de agua como consecuencia de preocupaciones ambientales mas estrictas y el incremento de las normas regulatorias. El uso generalizado de cromatos ha sido prohibido y programas con altos valores de pH (entre 7 y 9) se han adoptado. Fosfonatos orgánicos son generalmente usados ahora, en asociación con policarboxilatos para ejecutar control de incrustaciones <sup>(33)</sup>

Los indeseables efectos de estas nuevas estrategias originan un incremento de sólidos suspendidos, incremento en diversidad y número de microorganismos, y mayores cantidades de depósitos orgánicos e inorgánicos. Así, la mayor preocupación en estos días es mejorar los métodos , para mantener la eficiencia en la transferencia de calor vía control de los depósitos biológicos, mientras se preserva la inhibición de la corrosión y se evita la deposición de incrustaciones, requiriendose de un entendimiento apropiado de la variedad de interrelaciones entre variables inorgánicas y biológicas <sup>(13)</sup> .

### 1.6.5.2 Métodos de Prevención y Protección

Los sistemas empleados para prevenir los casos de corrosión causados por microorganismos generalmente consideran más el aspecto electroquímico del proceso que el microbiológico. Así, los métodos convencionales, como el uso de cubiertas protectoras o la protección catódica, se emplean con frecuencia. La eliminación del microorganismo causante del problema es difícil de lograr en suelos o sistemas abiertos, mientras que en tanques o sistemas cerrados la eliminación puede ser más factible por medio de biocidas.

Desde el punto de vista microbiológico, se puede atacar el problema en dos aspectos fundamentales

- A) Destruyendo o inhibiendo el crecimiento o la actividad metabólica de los microorganismos mediante el añadido de sustancias biocidas al medio.
- B) Modificando las características del medio corrosivo haciendolo inadecuado al desarrollo de microorganismos perjudiciales
  - Remoción de metabolitos esenciales a la bacteria (Eliminación de las fuentes metabólicas).
  - Modificación de la concentración de oxígeno, la forma de conseguirlo puede ir desde la aireación forzada (perjudicial para las bacterias anaeróbicas) hasta procurar estructuras de grava con buen drenaje y aereación para lecho de redes de cañerías bajo suelos.
  - El pH tiene límites mas o menos precisos para el desarrollo de cada especie de bacteria.
  - Uso de cubiertas protectoras (recubrimientos) que aisle al metal del medio ambiente corrosivo. Es útil en casos donde no es posible el uso de biocidas (cañerías enterradas). Estas no deben ser atacadas por las bacterias y no deben sufrir procesos de degradación que produzcan sustancias corrosivas, además de una buena adherencia al metal evitando toda presencia de humedad en la cubierta.
  - Protección catódica para materiales ferrosos. Se sugiere un potencial adicional de -100 mV por debajo de los -850 mV (para el caso del electrodo de Cu/CuSO<sub>4</sub>) necesarios para proteger el acero en condiciones normales.

### 1.6.5.3 Característica de los Programas Actuales de Monitoreo para la Biocorrosión y Bioensuciamiento

Programas de monitoreo para los efectos de biodeterioro han sido principalmente enfocados en la contribución de las bacterias planctónicas (flotantes) en muestras de agua, y la corrosión generalizada por medio del uso de cupones de corrosión o algún tipo de resistencia, como por ejemplo las probetas de resistencia de polarización.

Las principales objeciones para este tipo de programas son

- La población de bacterias planctónicas no refleja apropiadamente el tipo y el número de organismos que viven en la biopelícula y causan problemas de biodeterioro.
- La susceptibilidad de los microorganismos planctónicos a agentes antimicrobianos difiere marcadamente de los microorganismos sésiles (adherentes) dentro de la biopelícula, principalmente por la acción protectora de sus sustancias poliméricas extracelulares. Así, las bacterias sésiles son raramente afectadas por niveles de biocidas que matan por completo a las células planctónicas en el mismo sistema de agua. El uso de biocidas para el control de las bacterias causantes de corrosión requiere frecuentemente matar a la bacteria afectando su estructura en la superficie o dentro de las biopelículas. Así, los métodos de monitoreo adoptados deben proveer información de las biopelículas establecidos como los desarrollados en el agua del sistema.

Del punto de vista de corrosión, el método de la resistencia eléctrica es apropiado para la indicación de un cambio del rate de corrosión general, pero los resultados son difíciles de interpretar en presencia de corrosión localizada (picaduras), que es precisamente la forma más frecuente de ataque encontrado en casos de biocorrosión. Así, los métodos de cupones de corrosión y polarización lineal son los más usados para sistemas que sufren de corrosión uniforme. Si se presentan biopelículas o corrosión localizada, la resistencia de polarización revelará que algo está ocurriendo, pero puede no dar una medición precisa del rate de corrosión. Únicamente el uso de estas técnicas conjuntamente con otros métodos o parámetros que precisen la probabilidad de la corrosión localizada, pueden proveer datos de valor para el monitoreo de los efectos de deterioro del bioensuciamiento y corrosión <sup>(16)</sup>.

En años recientes, varios dispositivos de monitoreo de ensuciamiento (fouling) han sido desarrollados para sistemas de agua industrial con el objetivo de medir los efectos de depósitos biológicos sobre los fenómenos de transporte (ejemplo transferencia de calor, resistencia a la fricción del fluido) . Dos tipos comunes de estos monitores de bioensuciamiento son :

a) Dispositivos con paso de flujo anular y superficie calentada o Dispositivos con flujo interior y tubos calentados externamente.

En el primer caso, la sección a evaluar es internamente calentada y el microbiofouling se desarrolla fuera del área. Este tipo de dispositivos son colocados interiormente en un tubo container formando un anillo entre ambos tubos a través del cual el flujo circula. El tubo container es generalmente hecho de vidrio para facilitar la observación del ensuciamiento de la superficie

b) Dispositivos que miden el coeficiente de degradación de transferencia termal y la resistencia a la fricción al fluido. Esta configuración pretende reproducir el régimen de flujo en un tubo condensador y por lo tanto una pieza de tubo condensador puede ser usado como sección a evaluar (Sección Test).

Pese a que dispositivos de monitoreo suministran información útil de los efectos de ensuciamiento en general. Ellos no son capaces de :

- Discriminar entre ensuciamiento inorgánico y biopelículas
- Proveer información de la naturaleza y diversidad de componentes microbianos en los depósitos
- Facilitar el muestreo de los depósitos formados en la superficie interna de las tuberías.

Debido a las variables de naturaleza disímil involucrada en el bioensuciamiento y la biocorrosión, un programa efectivo de monitoreo, sea para laboratorio o campo, debe necesariamente suministrar información de la calidad del agua, ataque corrosivo, población de bacterias planctónicas y sésiles, características de biopelículas, composición química de inorgánicos y depósitos biológicos.

Dispositivos de muestreo para el monitoreo de la biocorrosión y biopelículas puede ser simultáneamente usados para apreciar el ataque corrosivo después de la remoción de depósitos inorgánicos y biológicos, dando una mas amplia y útil información.

Los depósitos de muestreo caen dentro dos tipos

a) Directamente Implantados

b) Implantados en la corriente

Cupones de metal, generalmente hechos con el mismo material estructural del sistema, presentan una área superficial conocida, que permiten un conteo aproximado de las bacterias sésiles por centímetro cuadrado después del desprendimiento de biopelícula. Los cupones son montados en dispositivos (holding assemblies) los cuales son luego insertados en la línea de trabajo (tubería) del laboratorio o sistema industrial.

Las principales características que debería poseer estos equipos para que sean considerados un buen dispositivo de muestreo son

- Asegurar que los cupones de metal experimente un flujo similar que el resto de la superficie de la tubería.
- Ser barato y fácilmente fabricable
- Ser fácilmente retirable del sistema
- Sostener varios cupones de muestreo para permitir duplicación de evaluaciones y una gran diversidad de ensayos por dispositivo de muestra.
- Ser fácilmente adecuado en cualquier acceso convencional al sistema de tuberías o lazos de flujo de laboratorio.
- Cuando sea usado en líneas presurizadas debe tener un diseño útil, compatible con los ajustes de las altas presiones existentes, evitando paradas parciales o despresurización.

#### **1.6.5.4 Instrumentación Aplicada en el Monitoreo de Biocorrosión y Bioensuciamiento**

Mejoras importantes en instrumentación microscópica, electroquímica, microbiológica y analítica facilitó el desarrollo de nuevos métodos para laboratorio y monitoreo de los efectos de la biodeteriorización en sistemas de agua industrial en el campo.

Los análisis químicos dentro de las biopelículas usando microsensors es uno de los más excitantes avances en instrumentación. Tan pronto la biopelícula sea limitado por la difusión, las condiciones químicas cerca y dentro de las biopelículas pueden variar dramáticamente sobre una distancia de únicamente algunos micrómetros. Así, la información obtenida de los análisis del volumen de agua es limitada y debe ser analizada profundamente antes de obtener

alguna conclusión con respecto a la biopelícula. Las mediciones directas dentro de la biopelícula son restringidas por:

1. Pequeños espesores de biopelícula
2. Perfil de concentración desarrollado a lo largo de la biopelícula donde muchos procesos son limitados por la difusión.
3. La naturaleza heterogénea de la biopelícula

Este último aspecto es particularmente interesante en la colonización microbiana de la superficie de un metal y por lo tanto en la biocorrosión. Un ejemplo de la tecnología del microsensors es la evaluación de gradientes de oxígeno disuelto cerca de las superficies de metal colonizadas por microorganismos.

Técnicas de avanzada en microbiología como pruebas desoxyribonucleicas (DNA), han sido aplicadas a las investigaciones de la biocorrosión y bioensuciamiento. Aunque estas técnicas están restringidas actualmente para laboratorio, su complementación con mediciones de campo pueden ser altamente útiles para el monitoreo de la biodeteriorización. El uso de pruebas de ácido nucleico en la evaluación de la estructura comunitaria de las bacterias sulfato reductoras, en campos de petróleo del oeste de Canadá han sido recientemente publicados. El desarrollo de la Técnica de Hibridación Cromosomal (DNA), Ensayos Genéticos de muestras inversa (Reverse Sample Genotyping Probing-RSGP), permite identificación de diferentes bacterias en una muestra, con una prueba de pasos simples a seguir. El uso de esta técnica en 31 muestras de campo petroleros indicó que hubieron al menos 20 BSR genéticamente distintas en estas muestras<sub>(31)</sub>.

Entre las últimas mejoras en instrumentación microscópica, el Microscopio de Barrido Electrónico Ambiental (Environmental Scanning Electron Microscope-ESEM) y el Microscopio de Barrido Láser Confocal (Confocal Scanning Laser Microscope-CSL) son probablemente las más interesantes herramientas recientemente desarrolladas para la observación de la biopelícula y evaluación. El uso del SEM y el TEM (Transmission Electron Microscopy o Microscopía de Transmisión Electrónica) requiere una remoción de agua rigurosa de la especie, y siempre que estas técnicas sean usadas el observador debería rehidratar las imágenes. El CSL ha permitido la examinación de biopelículas hidratadas por una técnica totalmente no intrusiva que permite barrer, imágenes tridimensionales de biopelículas en tiempo real. Esta innovadora

técnica ha mostrado que cerca del 75 al 95 % del volumen de la biopelícula bacteriana es ocupado por la matriz, y las células bacterianas pueden estar concentradas en las partes más bajas o altas de las biopelículas entre el 5 - 25 % del mismo. Se han reportado observaciones con el ESEM para el estudio de la biocorrosión y recubrimientos de protección.

El uso y limitaciones de técnicas electroquímicas para la investigación de efectos microbianos en la corrosión han sido ampliamente revisados. En estos días se han presentado, el desarrollo de nuevos métodos de evaluación electroquímica para el estudio del fenómeno de la corrosión localizada en monitoreo y análisis de biocorrosión. Entre las técnicas electroquímicas, el análisis de ruido electroquímico (ENA) podría ser enfocado como la herramienta ideal para el estudio de la corrosión localizada. Dos recientes aplicaciones de esta técnica para mediciones de laboratorio y estrategias para monitoreo de campo fueron desarrolladas para analizar las picaduras en aluminio y aleaciones de este en el primer caso y monitoreo en línea de la corrosión y ensuciamiento en sistemas de agua de enfriamiento en el segundo caso; se han reportado dispositivos innovadores para la evaluación del ensuciamiento en agua de mar y sistemas de agua de enfriamiento <sup>(16)</sup>.

#### **1.6.5.5 Control de la Biocorrosión y Bioensuciamiento**

Uno de los clásicos objetivos para el mantenimiento de un sistema industrial libre de los efectos del biodeterioro, es "mantener el sistema limpio". Aunque esta es una muy difícil tarea para ponerla en práctica hay varios métodos generales que pueden ser usados, estos métodos pueden ser clasificados en Físicos y Químicos.

Entre los primeros, flushing es quizás el más simple, aunque de limitada eficacia. Un caso especial es el uso de flushing complementado con limpiadores o conjuntamente con agentes químicos que inducen el desprendimiento de la biopelícula.

Bolas esponjosas abrasivas o no abrasivas se emplean frecuentemente en la industria. El primero podría presentar problemas relacionados con las capas pasivas protectoras las que pueden ser dañadas, y el segundo no es muy efectivo con la presencia de espesores de biopelícula.

Con referencia a los métodos químicos, el planteamiento más común para controlar problemas de bioensuciamiento en sistemas de agua industrial, es el



uso de biocidas. Estas sustancias pueden ser también tóxicos oxidantes o no-oxidantes. Cloro, Ozono y Bromo son tres típicos agentes oxidantes de uso industrial. Biocidas no oxidantes son mas efectivos que los biocidas oxidantes para el control total de hongos, algas y bacterias. Ellos tienen una mayor resistencia y muchos de ellos son independientes del pH. Se usa frecuentemente una combinación de biocidas oxidantes o no-oxidantes o dos biocidas no oxidantes para optimizar el control microbiológico en sistemas de agua industrial. Biocidas Típicos No-oxidantes son el formaldehído, glutaraldehído, isotiozolona y componentes de amonio cuaternario.

El incremento de requerimientos legales y la necesidad para una mayor aceptabilidad ambiental, ha contribuido a restringir el uso de algunos biocidas tradicionales y desarrollar también otros nuevos componentes o seleccionar cuidadosamente mezclas de los biocidas existentes. La ultima alternativa ofrece varias ventajas cuando es comparada con las costosas investigaciones para la formulación de un nuevo biocida. Las listas de preocupaciones ambientales normalmente incluyen

- 1) Preservación de hábitat/especies
- 2) Efecto Invernadero y agotamiento de ozono
- 3) Limpieza del aire y el agua
- 4) Reciclaje o Eliminación de rellenos en tierra (Landfills)
- 5) Control de la población y condiciones ambientales responsables de la vida.

Al respecto, diversas organizaciones en los Estados Unidos y Latinoamérica han declarado sus objetivos y proyectos en aspectos ambientales en sus publicaciones

## 1.7 Problemas en los Sistemas de Enfriamiento

### 1.7.1 Generalidades

El agua de enfriamiento pasa a través de muchos tipos de equipos que tienen una característica común : todos ellos están diseñados para intercambiar calor de algún medio al agua de enfriamiento. El enfriamiento es necesario para :

- a). Condensar vapor
- b). Controlar temperatura
- c). Bajar Temperatura.

Una vez que el calor ha sido transferido al agua enfriante, es posteriormente retirado por el agua.

### 1.7.2 Tipos de Sistemas de Enfriamiento

Los sistemas de enfriamiento pueden ser :

- a. De un solo paso
- b. Recirculación Abierta
- c. Recirculación Cerrada

#### 1.7.2.1 Sistemas de un solo paso

**Características :**

En este sistema el agua de enfriamiento pasa a través del equipo de transferencia de calor solamente una vez . No hay concentración de agua .

Se emplea solamente donde hay disponibilidad de grandes volúmenes de agua barata. Se emplea en sitios donde no hay limitaciones por descargas calientes.

**Problemas :**

- a. Depósitos inorgánicos por sólidos suspendidos.
- b. Depósitos biológicos o "slime"
- c. Corrosión

**Ventajas :**

Baja inversión de equipos

**Desventajas :**

Tratamiento es más limitado por costos y regulaciones ambientales.

**1.7.2.2 Sistemas de Recirculación Cerrada****Características :**

El calor es transferido al agua enfriante procedente del proceso en caliente , pero posteriormente es removido del agua de enfriamiento por conducción a otro equipo de transferencia de calor. No evapora ni concentra agua.

Como el consumo de agua es mínimo ( por fugas ) se usa agua de muy buena calidad ( generalmente muy suavizada )

**Problemas :**

Son menos , comparados a los sistemas de un solo paso y a los sistemas de recirculación abierta.

- Corrosión por altas temperaturas.

**Ventajas :**

- Consumo de agua mínimo
- Tratamiento de agua puede ser muy completo , puesto que es barato por no perderse químicos . Se minimizan todos los problemas.
- Mejor control de temperatura.

**Desventaja**

- Costo de equipos y mantenimiento del mismo.
- Cuando se presente corrosión , los subproductos de la misma pueden taponar el sistema cerrándolo en horas o aún en días.

**1.7.2.3 Sistemas de Recirculación Abierta****Característica :**

El calor es transferido a la atmósfera por evaporación de agua de enfriamiento. Generalmente se emplean torres de enfriamiento , aunque tanques con rociadores (Spray ponds) también se usan.

Se diferencian de sistemas de un solo paso, porque, los sólidos del agua recirculante se concentran.

**Problemas :**

- Corrosión ( continua oxigenación )
- Depósitos inorgánicos e incrustaciones
- Depósitos biológicos

**Ventajas :**

- Requerimientos de agua bajos, comparados a sistemas de un solo paso.
- Existen facilidades y economía en los tratamientos del agua.

**Desventajas**

- Inversión inicial alta ( torre de enfriamiento )

**1.7.3 Torres de Enfriamiento**

El tipo más común es la llamada humedad o de evaporación (**Ver figura 1.7.1**), en la cual una pequeña parte de agua enfriante es evaporada, cediendo calor a la atmósfera y enfriándose el agua remanente.

**1.7.3.1 Definiciones****1. Tasa de Recirculación ( $Q_c$ )**

Es el flujo de agua de enfriamiento que se bombea a través de todo el circuito de enfriamiento de la planta, que por lo general enfría un cierto número de intercambiadores.

**2. Diferencia de Temperatura ( $\Delta T$ )**

Este término se refiere a la diferencia entre la temperatura promedio del agua que regresa a la torre desde los intercambiadores de la planta ( $T_2$ ) y la temperatura promedio del agua después de la evaporación ( $T_1$ ) vale decir del estanque de la torre.

**3. Pérdida por Evaporación**

El efecto de enfriamiento se produce por evaporación de una pequeña cantidad de agua de recirculación. En la practica se acepta que por cada 10°F se evapora el 1% del agua de recirculación.

La cantidad de evaporación que puede tener lugar en una torre esta limitada por la humedad relativa del aire. La humedad relativa se determina midiendo las temperaturas de bulbo húmedo y seco del aire.

Además la evaporación se debe corregir por un factor de 0.8, por considerar que un 20% del calor del agua se transmite al aire por transmisión directa y no por evaporación, luego:

$$E = 1.8(\Delta T)0.8 Q_c / 1000$$

#### **4. Agua de reposición o Make-Up (MU)**

Reemplaza las pérdidas por evaporación y pérdidas por purga. Se calcula mediante la siguiente ecuación

$$MU = \text{Evaporación.} [ FC / \{FC-1\} ]$$

#### **5. Ciclos de Concentración (FC)**

Debido a pérdidas de agua como vapor y reemplazo de ésta por agua que contiene sólidos disueltos, el agua de recirculación es más concentrada que el agua de reposición. Los ciclos de concentración indican el número de veces que el agua de reposición se concentra en el sistema de enfriamiento. En la practica se define como :

$$FC = \text{Rate Make Up} / \text{Rate Purga}$$

Se chequea por relación de un ion altamente soluble y que se mantenga inerte a toda reacción en el sistema.

$$FC = \text{ppm Cl- en agua de recirculación} / \text{ppm Cl- en agua de Make Up}$$

El número de ciclos de concentración que se permite en un sistema de enfriamiento, depende de variables tales como :

- A. Análisis del Agua de Make Up
- B. Diferencial de Temperatura
- C. Tiempo de Residencia del Agua en el Sistema

La relación entre ciclos de concentración y consumo de agua de Make Up, se muestra en **la figura 1.7.2.**

- A. A mayor ciclo de concentración, menor consumo de agua de Make Up
- B. La curva es asintótica por encima de 4-5 ciclos, la economía no es mayor, y en cambio se pueden tener problemas de incrustaciones.

### **6. Control de Purga (P)**

Puesto que el vapor de agua puro se descarga por evaporación, los sólidos disueltos y suspendidos que quedan atrás se concentran . Si no hubiera otra pérdida de agua que la de evaporación, estos sólidos se concentrarían hasta formar una salmuera que causaría incrustación masiva y corrosión. Para compensarlo se purga un flujo regulado del sistema de recirculación.

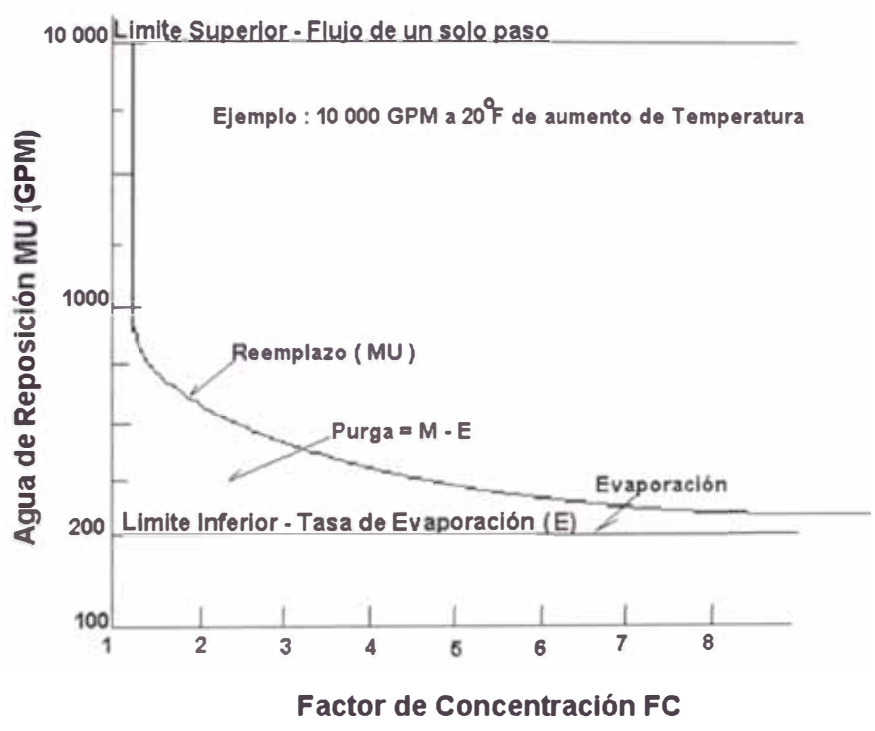
Los ciclos de concentración se regulan o controlan con purga continua (semejante a una caldera). Vale decir esta purga se calcula y se controla para remover sólidos a la misma tasa a la que se introducen por el make up. Aumentando la purga se disminuyen los ciclos de concentración disminuyéndola , aumentan.

El rate de purga se define como el agua que se pierde del sistema por todos los medios (sangrado controlado, arrastre, filtración, etc) , excepto por evaporación. La purga se calcula por la siguiente expresión:

$$P = \text{Evaporación} / \{FC-1\}$$

### **7. Capacidad de Retención del Sistema (V)**

Se puede obtener una aproximación de la capacidad de retención calculando el volumen del agua en el estanque y añadiendo un 30-40% extra para el agua contenida en las líneas y en el equipo. Una forma practica de evaluar el volumen del sistema puede ser añadiendo una cantidad conocida de sal común y medir el incremento de sólidos disueltos. Por ejemplo 454 gramos de sal aumentará los sólidos disueltos en 120 ppm en 1000 galones de agua.



**Figura 1.7.2 Reducción del Flujo de Reemplazo por concentración en un sistema de enfriamiento evaporativo**

Así se puede establecer la siguiente relación

$$V = \text{libras de sal agregada} \times 120\,000 / \text{Aumento de STD (ppm)}$$

### **8. Tiempo por Ciclo (t)**

Un ciclo se define como el tiempo requerido por el agua para hacer un viaje alrededor del circuito de circulación. Este tiempo es una función de la capacidad de retención y de la tasa de recirculación.

$$t = V/Qc$$

### **9. Índice del Tiempo de Retención (ITR)**

El índice del tiempo de retención es una expresión de la vida media de un producto químico de tratamiento añadido al sistema. Este índice representa el tiempo requerido para diluir un producto químico añadido hasta un 50 % de su concentración original después de que se suspende su adición.

$$ITR = \text{Ln}2 (V/P)$$

## **1.7.4 Problemas Típicos en Sistemas de Enfriamiento**

Los problemas más comunes los podemos clasificar en

- Formación de depósitos de tipo incrustante y/o por ensuciamiento
- Corrosión
- Crecimiento de microorganismos

### **1.7.4.1 Control de Incrustaciones**

#### **1. Generalidades**

La formación de incrustaciones y depósitos en general son críticos en los procesos de enfriamiento, porque esencialmente:

- A. Reducen la transferencia de calor, con las consecuentes pérdidas en eficiencia del enfriamiento.
- B. Reducen el flujo de agua a través del equipo, acompañado por disminución de velocidad, aumentando el riesgo de la formación de más incrustación.



C. Son causa de formación de celdas de concentración y/o celdas de aereación, las cuales aceleran la corrosión.

D. Sirven de soporte para el desarrollo de microorganismos, especialmente del tipo anaeróbico, los cuales son causantes de corrosión.

## **2. Incrustaciones**

Son el resultado de precipitaciones de compuestos de la fase de agua, debido a que su solubilidad se ha excedido. Las incrustaciones a diferencia de los lodos y suciedades, son duras, densas y sobretodo muy adherentes.

Suciedades son contaminantes que ya están en forma insoluble y que entran al sistema para luego sedimentar cuando las condiciones sean propicias. En sistemas de enfriamiento los constituyentes mas comunes de las incrustaciones son :

- Carbonato de Calcio
- Sulfato de Calcio
- Fosfato de Calcio
- Sales de Magnesio
- Sílice

Las condiciones necesarias para la formación de incrustaciones son

- Sobresaturación
- Nucleación
- Tiempo de Contacto

Adicionalmente existen otros factores que afectan la formación de incrustaciones:

- pH
- Temperatura
- Velocidad y dirección de flujo
- Corrosión
- Sólidos Suspendidos
- Actividad Microbiológica

## **3. Prevención**

Las incrustaciones en sistemas de agua de enfriamiento se puede prevenir en tres formas esenciales

- Limitando las concentraciones de las especies iónicas críticas, manteniendo bajos ciclos de concentración o usando agua suavizada con make up.
- Reduciendo alcalinidad con adición de ácido para destruir carbonatos y bicarbonatos, manteniendo pH por debajo del pH de saturación. El método opera como control de incrustación pero va haciendo el agua corrosiva.
- Aplicando agentes químicos inhibidores de incrustación.

### ***Inhibidores químicos***

Estos productos operan mediante una variedad de mecanismos a saber:

- Sobresaturación

Retarda el crecimiento de los cristales. El cristal adsorbe el químico durante su formación, impidiendo su posterior crecimiento.

- Modificadores de cristales

Se distorsiona la estructura cristalina del precipitado, de manera que este no llegue a ser adherente sino fluido y baboso, de fácil remoción.

- Secuestro

Reaccionar con iones causantes de incrustaciones para formar complejo soluble que previene su precipitación.

- Dispersión o acondicionamiento de lodos.

Modifican químicamente la estructura cristalina de la incrustación, mediante inclusión del inhibidor en la red cristalina, para formar depósito esponjosos fluidos y no adherentes,.

## **1.7.4.2 Control de Ensuciamiento**

### ***1. Generalidades***

Las mismas razones que se dieron para controlar incrustaciones en sistemas de enfriamiento, se dan para el control de "fouling" o suciedades ( **Ver figura 1.7.3** ) .

### ***2. Fouling o Ensuciamiento***

Se distingue de la incrustación en que los depósitos por suciedad se forman a partir de sustancias que ya están suspendidas en el agua.

Los materiales causantes de fouling pueden estar presentes en el sistema en cinco formas:

- Crecimiento Biológico

- Materia coloidal procedente de productos de corrosión: carbonato de calcio, hierro, etc.
- Barro, arenas finas suspendidas en el agua de make up.
- Impurezas sólidas y partículas presentes en el aire que entra en contacto con el agua en la torre de enfriamiento.
- Contaminación del agua enfriante con materiales del proceso. Ejemplo: aceite.

Entre los factores que afectan el ensuciamiento se tiene : características del agua, temperatura, velocidad y dirección de flujo, crecimientos microbiológicos y contaminación del proceso.

### **3. Control de Fouling**

El control de fouling en sistemas de agua de enfriamiento es un factor importante para optimizar la eficiencia de transferencia de calor.

Básicamente hay dos métodos o combinaciones de estos , para el control de fouling

#### ***Ajustes Mecánicos***

- A. Empleando agua clarificada o filtrada como agua de make up. Reduciendo sólidos suspendidos.
- B. Instalando filtros laterales a la corriente del agua, en los cuales se filtra parte del agua de recirculación, manteniendo sólidos suspendidos en un cierto límite.
- C. Instalación de baffles en el lado de la coraza de intercambiadores de manera tal, que se establezca un flujo que ayude la transferencia de calor y evite zona muertas donde se depositen sólidos.
- D. Contralavados, desprendiendo materia suspendida que ha sedimentado en áreas de bajo flujo.

#### ***Inhibidores de Fouling o Dispersantes***

Son compuestos que mantienen en suspensión partículas insolubles, evitando que se depositen en las superficies metálicas.

Operan esencialmente por refuerzo de cargas sobre partículas coloidales o por reducción en la tensión superficial. Con este mecanismo el químico se adsorbe sobre las superficies de las partículas, saturándolas con

cargas eléctricas, lo cual resulta en una repulsión entre partículas, evitando así que se aglomeren y eventualmente sedimenten.

Entre los dispersantes que operan por este mecanismo tenemos los poliacrilatos y polimetacrilatos, los cuales son excelentes dispersantes de sólidos suspendidos y fierro suspendido.

### 1.7.4.3 Control de Corrosión

#### 1. Generalidades

La corrosión es un serio problema por los siguientes efectos que ocasiona

- A. Aumenta costos de producción por reparaciones, reemplazo de equipos, y mantenimiento en general.
- B. Dificulta operación por pérdidas de caída de presión, temperatura ( $\Delta P$  y  $\Delta T$ ) y restricciones de flujo.
- C. Pérdidas en producción por limitaciones del equipo de enfriamiento o por paradas.

Normalmente en un proceso de corrosión eletroquímica podemos diferenciar las siguientes etapas:

- Pérdida del metal ( área anódica). En el caso de la corrosión del hierro, éste (Fe) entra al agua en la forma oxidada de ion  $Fe^{++}$ .
- Como resultado de la formación de  $Fe^{++}$  , se liberan dos electrones que fluyen a través del metal al área catiónica (Cátodo).
- El oxígeno presente en el agua se mueve hacia el cátodo y completa el circuito usando los dos electrones que también fluyen al cátodo, para formar  $OH^-$  en la superficie del metal. En ausencia de oxígeno, iones  $H^+$  participan en la reacción en el cátodo en lugar de este y completa el circuito eléctrico.

#### 2. Velocidad de Corrosión

Si cualquiera de las tres etapas básicas mencionadas para la corrosión se impide o previene, la corrosión cesa.

La mas lenta de estas etapas determina la velocidad de corrosión. La reacción catódica es la mas lenta en la corrosión del acero por la dificultad del oxígeno en difundirse a través del agua. Al aumentar temperatura, se reduce la viscosidad del agua y acelera la difusión del oxígeno, así la corrosión aumenta.

La relación área anódica a área catódica es muy importante. Una alta relación cátodo/ánodo aumenta corrosión.

Cuando el área anódica se reduce y no se disminuye el área catódica, se pierde la misma cantidad de metal, pero en forma mas profunda, dando lugar a la corrosión por picadura o pitting.

### **3. Factores que afectan la corrosión**

Las principales características del agua, que más afectan a la corrosión son

- Contenido de oxígeno
- Sólidos disueltos
- pH
- Temperatura
- Crecimientos biológicos
- Sólidos suspendidos

### **4. Métodos de Prevención**

#### **A. Inhibidores de Corrosión**

Aunque existen muchas opciones para minimizar la corrosión mediante un mejor diseño, mejor metalurgia, mejor construcción. etc., por razones económicas la mayoría de los sistemas se fabrican de tal manera que se necesitan inhibidores químicos para controlar la corrosión. Existen productos químicos que se aplican al agua, y detienen la reacción anódica, otros hacen lo mismo con la reacción catódica, en ambos casos se reducirá la corrosión.

Se clasifican en tres grandes grupos

- Anódicos
- Catódicos
- Anódicos/Catódicos Orgánicos

#### **B. Recubrimientos**

Normalmente aplicables como un acto preventivo en zonas del sistema de enfriamiento que podrían ser susceptibles a picaduras. Los recubrimientos protectores son productos que representan el método de control de corrosión mas ampliamente usado.

Su función es separar dos materiales altamente reactivos , evitando el contacto de gases industriales corrosivos, líquidos y sólidos , de la superficie de la estructura a proteger ; en otras palabras actúan como barreras protectoras. Según este concepto , el recubrimiento debe ser una película completamente continua para cumplir su función <sup>(28)</sup> .

Los recubrimientos resistentes a la corrosión fundamentalmente deben resistir atmósferas corrosivas y prevenir los daños a la estructura recubierta . La mayor parte de estos recubrimientos son especialmente diseñados para resistir diferentes condiciones corrosivas.

Los recubrimientos resistentes a la corrosión pueden ser divididos en diferentes clases de acuerdo a la reacción química base relacionada con la formación de la película . Para la protección del interior de tanques , las pinturas epóxicas tienen muy buena performance.

### **Sistemas Epóxicos**

Las resinas epóxicas en sí, son de poco interés porque no son de secamiento al aire, pero mediante reacciones con determinados productos orgánicos ( agentes endurecedores o catalizadores ) su estructura se ramifica tridimensionalmente formando una película seca a temperatura ambiente o a temperaturas mas elevadas , transformándose en resinas termoendurecibles , infusibles , insolubles, con excelentes propiedades mecánicas y resistentes a la mayor a la mayor parte de los agentes químicos . Es por esto que la elección del agente endurecedor que entrará a formar parte de la macromolécula, tiene un papel determinante con respecto a las propiedades finales del sistema.

### **Sistemas Epóxicos Modificados**

Para conseguir propiedades particulares, las resinas epóxicas pueden combinarse con otras resinas . Los sistemas mixtos más usados son :

- Sistemas Epóxi-Coal Tar : Teniendo estos dos productos se puede obtener pinturas con características anticorrosivas y de resistencia química excelentes . Entre la resina , el coal-tar y el endurecedor se producen , durante el endurecimiento , reacciones químicas complejas

que llevan a la formación de un revestimiento en el coal tar quedando parcialmente unido a la resina.

#### - Sistema Epóxi-Fenólico

Los sistemas de resinas epoxi-fenólicas presentan generalmente una excelente resistencia al agua.

### **C. Protección Catódica**

Normalmente se aplica dependiendo de que tipo de material del circuito de enfriamiento se encuentran desnudas y enterradas. El efecto práctico de la actividad de la bacteria anaerobia sobre la aplicación de protección catódica, es un incremento en la cantidad de corriente requerida para mantener la protección catódica <sup>(28)</sup>. Algunos técnicos han reportado que se debe usar potenciales de protección más altos que los normales en áreas donde están actuando las bacterias anaerobias porque los potenciales de circuito abierto de área anaerobias son más altos. Un adicional de 100 mv de potencial de protección ha sido sugerido (-0.95 volt. con electrodo de Cu/SO<sub>4</sub>Cu contra los usuales -0.85 volt.) .

En tuberías desnudas , hay dos efectos que pueden operar para incrementar la corriente requerida para la protección catódica. Una de éstas es la acción de las bacterias que sirve como agente despolarizante. El otro efecto puede ser asociado con la acción de los tipos de bacterias aeróbicas originando suficiente materia orgánica en el "backfill" para servir como provisión de comida . Como un resultado de esta actividad bacterial puede formarse ácidos orgánicos como subproductos , los cuales tienden a incrementar la corriente requerida para polarizar el acero. La formación de ácidos puede estar presente bajo condiciones aeróbicas o anaeróbicas.

En tuberías recubiertas , se aplica el mismo efecto discutido para tuberías desnudas a las áreas donde el acero desnudo está expuesto en zonas donde ha fallado el recubrimiento ; sin embargo , el efecto bacterial es de mayor importancia en recubrimientos mal adheridos , porque las celdas de corrosión bajo el recubrimiento permanecerán activas bajo el efecto despolarizante de la bacteria y de este modo puede ocasionar una seria

corrosión, aún cuando la tubería aparentemente está bajo protección catódica. La razón para esto es que la acción bacteriana teniendo lugar una capa de recubrimientos eléctricamente aislado, la corriente de protección no puede alcanzar la superficie de acero que está siendo afectada y que el grado de severidad atribuible al efecto bacteriano bajo un recubrimiento dependería de un mayor y mejor alcance del sistema de recubrimiento usado.

Según los últimos estudios realizados el potencial de  $-950$  mV no es aplicado para prevenir la actividad de las Bacterias Sulfato Reductoras (BSR), sino que está basado en un nivel teórico que permitirá lograr la protección del acero en ambientes sulfurados. Se ha realizado un estudio para determinar el efecto de un potencial catódico de  $-950$  mV sobre la actividad de la biopelícula formada, y la producción de sulfuro dentro de la misma. La prueba se realizó con cupones de corrosión desprotegidos y protegidos con ánodos de sacrificio, los cuales fueron expuestos en aguas marinas. Se encontró que la actividad de las poblaciones de BSR fue significativamente mayor en los cupones desprotegidos. Sin embargo, los resultados mostraron que un potencial de  $-950$  mV no prevé una población activa de BSR desarrollándose sobre la superficie del metal. Esto sugiere que la más baja actividad de la biopelícula sobre los cupones protegidos no es directamente causada por un efecto inhibitorio del potencial catódico; pero que la mayor actividad sobre los cupones desprotegidos puede ser el resultado de la producción de una película de corrosión extensiva que ofrece condiciones más favorables para la actividad de la bacteria anaeróbica.

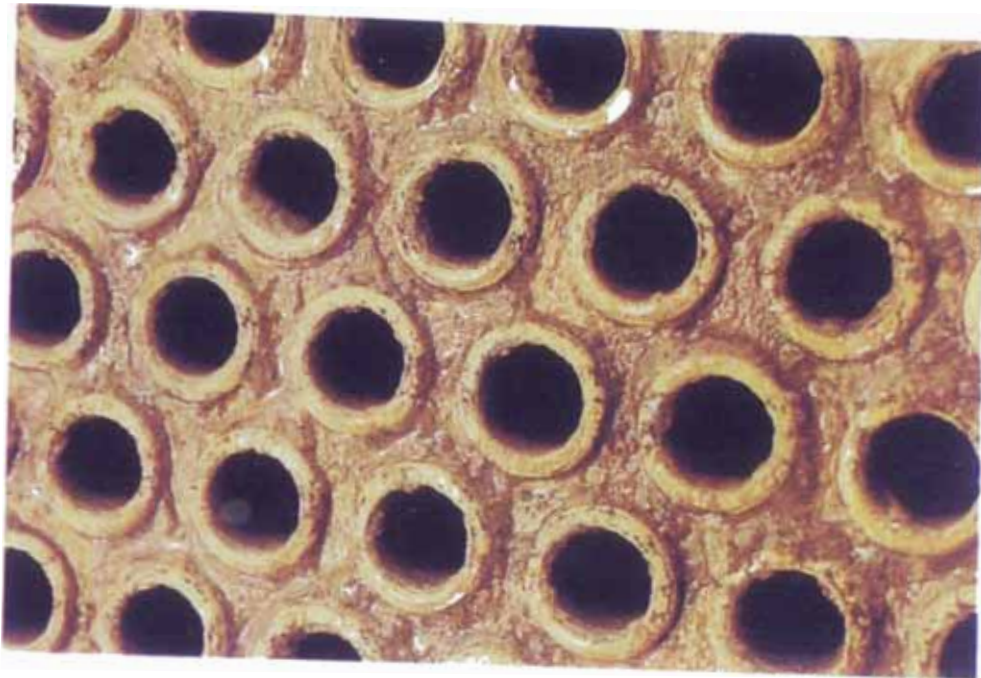
#### ***D. Recubrimientos Biocida***

De acuerdo con este método, la corrosión interior es eliminada con la limpieza de las superficies internas, y luego se aplica sobre la superficie limpia una capa de biocida y posteriormente una capa de resina.

La superficie puede tener cualquier forma, ya sea cilíndrica, cúbica o esférica.

Luego de que la superficie interna del fondo ha sido limpiada, se aplica una capa de biocida. Los biocidas que más se ajustan a esto incluyen los tetraboratos de los metales alcalinos y alcalinoterreos. Esto incluye el





( A ) Capa Gelatinosa de Biopelícula sobre la placa de tubos de un Intercambiador de Calor



(B).- Misma placa de la figura 1.7.4A pero dividida arriba y debajo de la caja de agua para mostrar la placa de salida limpia (parte superior) y la placa de entrada con biopelícula (parte inferior)



(C).- Una capa de biopelículas secas "descascarándose" de las superficies de la caja de agua en un intercambiador pequeño.

**Figura 1.7.4 Películas Biológicas formadas en Intercambiadores de Calor**

bórax, perborato y metaborato de sodio . Igualmente se pueden usar los per , meta y tetra boratos de litio , potasio y amonio. La capa de biocida se puede aplicar como una solución concentrada o pasta , por ejemplo 60 % en peso en agua caliente ( usualmente la máxima concentración posible ). Si se desea , el biocida puede ser disuelto en una mezcla de agua y solvente volátil como el metanol.

Luego de que se haya aplicado el biocida y se haya removido el solvente, se aplica una capa de resina . La más adecuada es una poliepóxica . Como una alternativa a la resina poliepóxica, se puede usar otras resinas como una resina alquídica , una resina fenol-formaldehido ( resina novolac) , o una resina poliéster.

En una modificación de este método, en lugar de aplicar una capa de biocida y luego una capa de resina, se puede mezclar el biocida con la resina o con uno de los componentes de la resina, antes aplicar a la superficie del tanque y se endurezca <sup>(27)</sup>

#### 1.7.4.4 Control Microbiológico

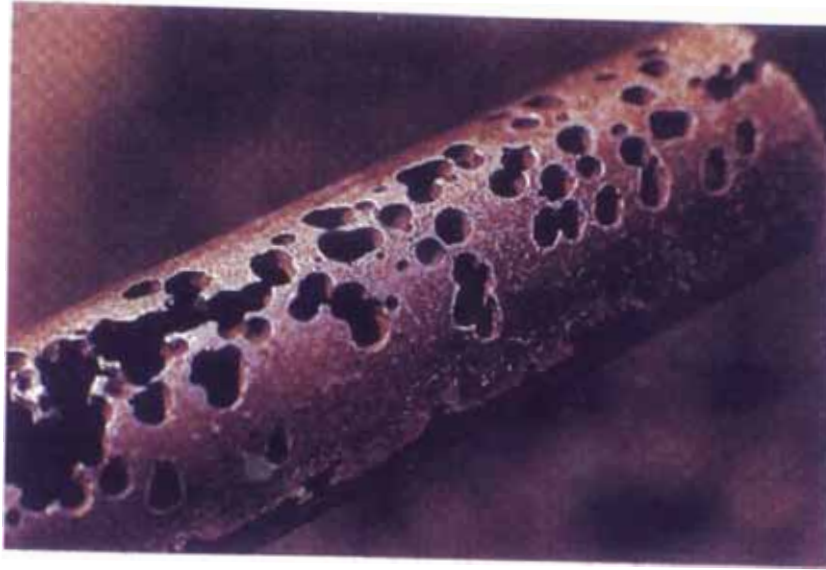
##### 1. Generalidades

El crecimiento excesivo de microorganismos en sistemas de enfriamiento constituye un problema muy serio por los siguientes efectos que ocasiona

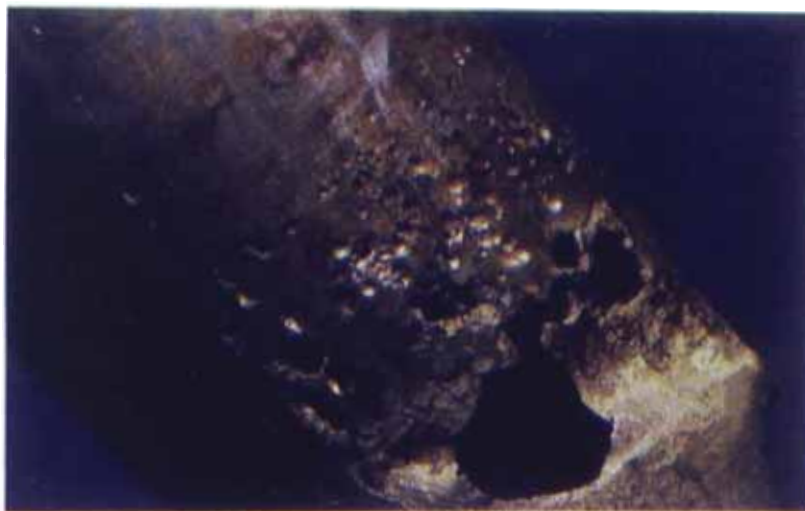
- A. Produce ensuciamiento del tipo gelatinoso (slime) que interfiere en la transferencia de calor, y flujo de agua ( **Ver figura 1.7.4**).
- B. Indirectamente son causa de corrosión ya que los depósitos formados por colonias dan lugar a celdas de concentración o celdas de aireación y/o interfieran en la formación de películas de inhibidores.
- C. Algunos microorganismos son causa directa de corrosión como consecuencia de su proceso metabólico. Ejm . Bacterias Sulfatorreductoras ( **Ver figura 1.7.5** ).

##### 2. Ensuciamiento o Fouling Biológico

El ensuciamiento biológico o slime es el resultado del crecimiento excesivo de microorganismos presentes en el agua. La lama o slime esta caracterizado por su consistencia babosa.



( A ).- Tubo de aluminio de un intercambiador de calor picado severamente . Las picaduras se debieron a BSR debajo de una capa de biopelícula. La orilla de la capa de biopelícula queda apenas visible como un borde rugoso entre el aluminio de color claro y el metal de abajo, más oscuro y sin recubrir



( B ).-Picaduras hemisféricas pequeñas en el extremo de un tubo de intercambiador de calor de acero inoxidable 304. El intercambiador de calor se removió del servicio y se almacenó verticalmente durante un periodo prolongado. Se acumularon depósitos en los extremos inferiores de los tubos donde se reprodujeron las BSR.

**Figura 1.7.5 Picaduras Ocasionadas por las BSR en Intercambiadores de Calor**

Los microorganismos entran al sistema de enfriamiento a través del agua de make up, aire y polvos que arrastra el viento.

Los factores que mas contribuyen al desarrollo de microorganismos son: Nutrientes, atmósfera, localización, temperatura, pH.

### **3. Microorganismos encontrados en aguas de enfriamiento**

Los grupos de microorganismos más comunes en sistemas de enfriamiento y los problemas que acarrearán, se presentan en la **tabla 1.7.1**.

#### **Bacterias**

Es el grupo que mas problemas genera, no necesitan de luz para su desarrollo; puede crecer en presencia o ausencia de oxígeno. Los grupos bacteriales que atacan estos sistemas se pueden dividir de la siguiente forma:

- Aeróbicas formadoras de slime
- Anaeróbicas corrosivas
- Depositadoras de hierro

Dentro de las **aeróbicas formadoras de slime** las mas comunes son Pseudomonas, Flavobacterium, Anaerobacter, siendo la Pseudomona la más problemática. Los depósitos de slime se presenta porque el agua de enfriamiento tiene suficiente oxígeno para promover el crecimiento.

Dentro de las **anaeróbicas corrosivas**, las desulfovibrio son las más problemáticas. Se encuentran en cualquier parte, donde existan condiciones anaerobias, son sulfatorreductoras, derivando de ello su energía. Otras bacterias anaeróbicas, Desulfomaculum y facultativas generan H<sub>2</sub>S a partir de azufre orgánico. Las bacterias anaerobias aceleran la corrosión por varios mecanismos. Existen otras bacterias que consumen los productos de corrosión (H<sub>2</sub>S) y forman H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Normalmente la corrosión atribuida a bacterias anaerobias siempre se manifiestan como una picadura (pitting) localizada.

Las bacterias **depositadoras de hierro** son muy abundantes en aguas naturales, las mas comunes en este tipos de sistemas son: Gallionella y Sphaerotilus, ambas usan hierro soluble para convertirla en oxido insoluble, el cual causa problemas de ensuciamiento o fouling, generando celdas de concentración o creando condiciones para el desarrollo de bacterias anaeróbicas.

**Tabla 1.7.1 Características de los Microorganismos en Sistemas de Enfriamiento**

TIPOS	BACTERIAS AEROBIAS			BACTERIAS ANAEROBIAS	HONGOS (AEROBIOS)			ALGAS
	NO FORMADORAS DE ESPORAS	FORMADORAS DE ESPORAS	FILAMENTOSAS		MOHOS	LEVADURAS		
<b>ORGANISMOS</b>	Flavobacterim Pseudomonas Mycoides Aeromonas	Bacillus Subtilis Bacillus Cereus Bacillus Megatherium Mycobacterium	Depositadores de Hierro y Azufre Sphaerotilus Gallionella Beggiatoa	Desulfovibrio Clostridium	Aspergillus Penicillium Trichoderma Mucor Alternaria	Torula Monilia Rhodotorula	Oscillatoria Chlorococcus Ulothrix Diatomeas	
<b>DESCRIPCION</b>	Masas Mucosas floculantes pueden ser coloreadas de gris o gris o amarillo	Masas fibrosas gelatinosas coloreadas de gris o amarillo	Masas fibrosas o filamentosas pueden estar cubiertas por depósitos de hierro café rojizo	Usualmente negra con formación de FeS. Bajo depósito de Slime, fermentación materia organica	Fialmentosas de colores variados, verde, blanco, gris, etc.	Mucosas, pueden ser coloreadas	En areas expuestas al Sol. Viscosas de color azul o verde	
<b>pH</b>	4.0 - 8.0	5.0 - 8.0 Se adapta a 4.2	4.0 - 8.5	5.0 - 8.0 Puede adaptarse a 4.0	2.0 - 7.0	2.0 - 7.0	4.0 - 9.0	
<b>TEMPERATURA PROMEDIO</b>	60 -120 F	60 -135 F	40 - 105 F	50 - 100 F	40 - 125 F	60 - 120 F	60 - 120 F	
<b>PROBLEMAS COMUNES</b>	Ensuciamiento Formacion de Gas Protege a bacterias corrosivas	Ensuciamiento Protege a bacterias corrosivas	Ensuciamiento Forman celdas de corrosión Deposita fierro insoluble en sistema y obstruye el flujo	Corrosión Formación de gas Produce ácidos fuertemente corrosivos	Deterioro de la madera Ensuciamiento Forma celdas de corrosión	Ensuciamiento Celdas de corrosion Pudre madera	Ensuciamiento Protege a bacterias corrosivas Taponea huecos del distribuidor de agua en torres	

### **Algas**

Por necesitar luz solar para su desarrollo, estos organismos casi siempre se encuentran en el distribuidor de agua de las torres de enfriamiento, y superficies húmedas expuestas al aire y sol.

Las principales algas encontradas en sistemas de enfriamiento son Oscillatoria, Chlorococcus, Navicula.

Cuando existen crecimientos grandes, se parten cayendo a la piscina de la torre de donde pueden pasar al sistema causando problemas.

### **Hongos**

Al igual que las bacteria y algas generan depósitos en sistemas de enfriamiento. Cierta tipo de hongos como los Ascomicetos (pudrición superficial) y Basidiomicetos (pudrición interna), deterioran la madera . Varias clases de hongos pueden utilizar la celulosa como fuente de carbón

## **4. Prevención**

La mayoría de los programas químicos de tratamientos en sistemas de enfriamiento fallan mas por carecer de un control microbiológico adecuado , que por otras razones, para lograr este control se aplican productos biocidas. El principal propósito de un biocida es matar o inhibir el crecimiento exagerado de microorganismos evitando así la formación de bioensuciamiento.

El éxito de un programa de control microbiológico es muy dependiente de la calidad de agua , por cuanto regula el suministro de alimento y establece condiciones favorables o desfavorables para la acción de los biocidas. La aplicación de estos productos puede ser continua o intermitente, y las concentraciones a aplicar dependen del poderio letal del químico y del volumen del sistema.

Los biocidas requieren de una concentración residual que debe mantenerse en el sistema durante un cierto tiempo. Mientras mayor sea el residual, menor será el tiempo de contacto. En el siguiente capítulo se explicará los diferentes tipos de biocidas y mecanismos de acción.

# CAPITULO II

## 2.1 Biocidas

### 2.1.1 Definición

Es un producto químico o sustancia cuyo principal objetivo es matar o inhibir el crecimiento exagerado o la actividad metabólica de los microorganismos evitando así la formación de ensuciamiento biológico (biofouling o slime) o problemas asociados directa o indirectamente al biofouling <sup>(7)</sup>.

Suele denominarse sustancias bacterioestáticas a los productos que solo retardan el crecimiento de las bacterias (mantienen un nivel bacterial bajo) y bactericidas a las sustancias que matan a los microorganismos.

Lo anterior, unido a que normalmente un proceso de eliminación de biopelícula implica que la sustancia tenga, además de las propiedades mencionadas, otras funciones como Alguicida y Fungicida. Por lo tanto es común encontrar que determinado compuesto químico pueda ser bactericida, pero no necesariamente será alguicida o fungicida. De igual manera, por lo que se refiere a un mismo grupo de bacterias o de hongos, el producto puede actuar sobre una especie y no forzosamente sobre otras. Así muchos biocidas comerciales, que deberían reunir todas estas características, son evaluados en laboratorio y en el campo con el objeto de determinar cuál es el que más conviene y en que dosis deberá utilizarse

### 2.1.2 Resumen Histórico

Antiguamente, el control microbiológico fue fácil de mantener. Se usaba el Sulfato de Cobre para eliminar algas, y Clorofenoles y compuestos a base de mercurio para matar bacterias. Fuertes dosis intermitentes de cloro aseguraban el control, los cromatos creaban un ambiente bacteriostático en el cual las bacterias no podían crecer de ninguna forma.

Estos métodos ya no se utilizan en la actualidad, debido a las características contaminantes de todas esas sustancias, sin embargo la mayoría de los biocidas y otras técnicas de control de bioensuciamiento que actualmente se usan, vienen de tecnologías de muchos años atrás.

Como se sabe la corrosión inducida microbiológicamente fue reconocida en 1910 a partir de organismos del suelo. De igual forma los moluscos asiáticos significaron un problema mayor en Estados Unidos en 1954.

La aplicación del Bromo, que constituyó un buen ingrediente para mejorar la eficiencia del cloro en ambientes alcalinos de sistemas de agua de enfriamiento, fue discutida por primera vez por la American Water Works Association fue 1933. Compuestos donadores de Bromo orgánico fueron evaluados en 1946, y el uso de Bromuro de Sodio con Cloro fue patentado en 1948.

Con la presión ambiental de los 70's, el proceso de registro para los biocidas comenzó a ser difícil y costoso, apareciendo luego muchos biocidas oxidantes y no oxidantes, algunos diseñados para trabajar específicamente en ambientes alcalinos <sup>(29)</sup>. Junto con los tóxicos, los dispersantes fueron reconocidos como una forma útil para ayudar al cloro y otros biocidas para penetrar masas de slime. A continuación una cronología de acontecimientos importantes:

1904	Uso del Sulfato de Cobre como Alguicida
1910	Reconocimiento de Corrosión Inducida por Microorganismos
1924	Uso de cromatos en sistemas de enfriamiento, se reconoce sus propiedades bacteriostáticas.
1933	Uso de Bromuro líquido como Biocida
1938	Uso del Pentaclorofenato de Sodio como un biocida específico para Aguas de enfriamiento.
1940	Uso del Sulfato de Cobre para el control de algas en reservorios
1946 -1950	Uso de Bromo y compuestos de Bromo como biocidas Primera patente que cubre el uso de Bromuro de Sodio con Cloro para formar ácido hidrobromoso
1951 - 1955	Reconocimiento de ataque microbiológico en tablonas de torres de enfriamiento. Estudios de la deterioración de metales por microorganismos
1956 - 1960	Uso de bromuro de sodio con cloro en sistemas de enfriamiento con recirculación.
1961-1965	Primera patente de Bromoclorodimetil Hydantoin (BCDMGH) como biocida
1966 - 1970	El Primer Programa "Todo Orgánico" para Aguas de Enfriamiento



1971 - 1975	<p>Biodispersantes usados para ayudar al control del ensuciamiento biológico.</p> <p>Compuestos Organosulfurados usados como biocidas</p> <p>Uso de Cloruro de Bromo y Dibromonitrilopropionamida (DBNPA) como un biocida.</p>
1976 - 1980	<p>Reconocimiento del Cromato como cancerígeno.</p> <p>Uso de la Isotiozolona como biocida</p> <p>Introducción de programas con niveles mínimos de cromato</p> <p>Se exige de información toxicológica mas completa para el registro de biocidas</p> <p>Reconocimiento en Estados Unidos de los moluscos asiáticos como un problema grave en sistemas de agua de enfriamiento</p>
1981 - 1985	<p>Incremento en el uso de Glutaraldehído como un microbiocida para aguas de enfriamiento.</p>
1986 - 1989	<p>Uso de soft-ware y hardware avanzados en Sistemas de Enfriamiento, para controlar variables de operación y alimentación de productos químicos.</p> <p>Se propone evaluar y registrar todos los biocidas para aguas de enfriamiento</p>

## 2.1.3 Clasificación de los Biocidas

### 2.1.3.1 Por su grado de Oxidación

Podemos clasificar a los biocidas de acuerdo a su tipo genérico como sigue

#### A. BIOCIDAS OXIDANTES

Son biocidas a base de cloro y sus derivados. Oxidan lugares activos de las células, ciertos grupos SH de algunas coenzimas en etapas intermedias de la producción de ATP. Entre ellos tenemos : Cloro, Dioxido de Cloro, Biocidas liberadores de halógenos (Cloruro de Bromo), Peróxido de Hidrógeno ( $H_2O_2$ ).

#### B. BIOCIDAS NO OXIDANTES

Los biocidas no oxidantes son moléculas que reaccionan con varias partes de las células microbianas , generalmente en un lugar específico.

Ellos no oxidan componentes de la célula . Los grupos más comunes de biocidas no oxidantes son los aldehídos , los biocidas organoazufrados , sales de amina , y metales pesados.

### 2.1.3.2 Por su naturaleza química

La relación se divide en compuestos inorgánicos y compuestos orgánicos como sigue :

#### - Compuestos Inorgánicos

Gas Cloro	Hipoclorito de Sodio
Hipoclorito de Calcio	Peróxido de Hidrógeno
Sulfato de Cobre	Boratos

#### - Compuestos Orgánicos

Sales Orgánicas de Arsénico	Diclorofeno
Isocianuratos Clorinados	Cloruros de amonio cuaternario
Complejos Organo-Plata	Cloruros de cetil piridinas
Sales de Acetato de Cobre	Diisobutil-fenoxi-etoxi-etil dimetil bencil
Complejos Organo-Mercurio	Cloruro de Amonio
Óxidos Organo-Estannoso	Oxido de Etileno
Óxidos Estano-Butilenos	Amino Etileno
Ácido Tricloroacético	Bromuro de Metileno
Acrolein	Diaminas
Formaldehído	Sales de Acetato de varias poliaminas
Glutaraldehído	Acetatos de Imidazolina
Derivados del Acetileno	Derivados de Sulfamidas
Fenol	Isotiozolonas
Pentaclorofenol	Clorofenoles
Fenatos de Sodio	Hexaclorofeno

### 2.1.4 Aplicación y Dosificación de los Biocidas

#### A).- Aplicación

Los biocidas se aplican básicamente en tres rubros

- A) Desinfección de las instalaciones que contienen agua para el consumo humano, uso doméstico y sanitario.
- B) Desinfección y eliminación de bacterias patógenas en instalaciones domésticas, hospitalarias, agrícolas o industriales.
- C) Eliminación o disminución del ensuciamiento microbiológico en circuitos industriales.

## **B ).- Dosificación**

Existen dos métodos de dosificación

### ***B.1) Tratamiento Discontinuo o Shock***

Es el mas empleado por el menor costo involucrado. Es el más efectivo cuando existe un número bajo de colonias ingresando al sistema y que se desarrollan dentro hasta alcanzar un número elevado.

El tratamiento discontinuo comprende la aplicación de 50 a 200 ppm de producto por espacios cortos de tiempo.

### ***B.2) Tratamiento Continuo***

Involucra la aplicación de una cantidad relativamente baja de producto 10 a 25 ppm por períodos mas prolongados.

El método continuo se aplica cuando un gran número de microorganismos ingresa al sistema ocasionando un rápido retorno a las condiciones iniciales luego de aplicar el tratamiento discontinuo. Aquí el objetivo es inhibir el crecimiento antes que matar las bacterias. Respecto al punto de aplicación, este debe ubicarse la parte más posterior del sistema donde el número de colonias es los más bajo posible.

## **2.1.5 Mecanismos de Acción**

La esterilización química se consigue mediante agentes biocidas que actúan sobre las bacterias de alguna de las siguientes formas

**A. Shock osmótico o ruptura electrolítica**

Se desnaturalizan proteínas de las membranas y citoplasma celular alterando el ingreso y egreso de sustancias a la célula.

**B. Inhibición metabólica o envenenamiento.**

Bloquean la acción de enzimas respiratorias, citocromos, inactivando la transferencia de electrones necesaria para la respiración celular.

**C. Oxidación o formación de complejos con los principales componentes celulares.**

Estas oxidaciones se producen en lugares activos de ciertos grupos SH de algunas coenzimas en etapas intermedias de la producción de ATP.

**D. Efecto combinado de los anteriores mecanismos.**

## 2.1.6 Mecanismos de Neutralización Bacterial contra el Efecto de los Biocidas

Todas las bacterias poseen mecanismos capaces de neutralizar o atenuar el efecto de los biocidas.

Los más importantes son

**A).- Mecanismos de Acción Individual**

Están relacionados intrínsecamente con la bacteria en sí y entre los principales están los siguientes

- Producción de enzimas neutralizantes o destructoras de los biocidas
- Cambios estructurales en el interior de la célula que evita que el biocida llegue a puntos vitales de la célula.
- Alteración de la membrana citoplasmática para prevenir el ingreso del biocida al interior de la célula.
- Mutación progresiva en el sistema cromosómico

Básicamente todos estos mecanismos son resultado de la gran habilidad de la bacteria para disponer de varias fuentes de alimentación y elaborar una diversidad de enzimas a fin de neutralizar los productos químicos tóxicos.

El uso continuo o las dosis sub-letales de un biocida utilizados en los sistemas, proveen a la bacteria de la información necesaria para activar sus mecanismos de defensa.

## **B).- Mecanismos de Acción Colectiva**

Mediante estos mecanismos las bacterias crecen en forma de agregados policelulares ("colonias"), los cuales promueven la supervivencia de algunas células individuales en las condiciones mas adversas. En algunos casos se unen con diferentes tipos de bacterias y pueden desarrollarse bajo la protección de biopelículas compuestas principalmente de polisacáridos que poseen alta resistencia a la penetración de los biocidas.

### **2.1.7 Factores para seleccionar biocidas**

Los más importantes son

1. Efectividad contra los microorganismos que prevalecen en el sistema ; tipo y cantidad de éstos.
2. Indicaciones de problemas microbiológico tales como formación de slime, corrosión localizada, pudrición de madera.
3. Mantiene su acción inhibitoria al pH y temperatura del agua del sistema.
4. Compatibilidad con el tratamiento contra corrosión y ensuciamiento. Capacidad para mantener su acción inhibitoria frente a otras sustancias presentes en el medio.
5. Consideraciones sobre descargas de agua residuales.
6. Tiempo de residencia del agua del sistema. Existen biocidas de acción lenta y acción rápida.
7. No ser corrosivo para el sistema donde debe usarse

## 2.2 Biocidas para sistemas de agua de enfriamiento

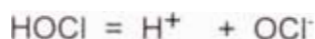
### 2.2.1 Compuestos Activos de Biocidas Comerciales

Dentro del grupo de biocidas empleados en el tratamiento de aguas de enfriamiento industrial , los mas importantes son :

#### A ).- Cloro

##### **Características**

Es uno de los biocidas mas efectivos que se emplean en aguas de enfriamiento . Su hidrólisis en agua produce ácido hipocloroso , el cual a su vez se descompone , de acuerdo a las siguientes reacciones :



Los residuales más usuales de cloro , en agua dulce , dependiendo del tipo de microorganismos , son las siguientes :

- a. Bacterias formadoras de slime requieren del orden de 0,5 ppm Cloro libre , con tiempo de contacto de 10 minutos.
- b. Bacterias ferríticas y sulforeductoras requieren 1,0 ppm cloro libre , con tiempo de contacto de 1 hora.
- c. Algas son los más resistentes , requiriendo 1,0 ppm Cloro libre y hasta 2 horas de tiempo de contacto
- d. No es muy efectivo contra los hongos.

##### **Mecanismo**

Reacciona irreversiblemente con el sistema enzimático de los organismos perdiendo estos la habilidad de oxidar la glucosa. Esto es especialmente cierto con enzimas que contiene grupos sulfhidricos.

Su hidrólisis en agua produce ácido hipocloroso , el cual a su vez se descompone , de acuerdo a las reacciones expresadas anteriormente.

El ácido hipocloroso es la forma más efectiva de matar los organismos debido a la relatividad de penetrar las paredes celulares ( HOCl es una molécula sin carga eléctrica semejante al agua )

El ion hipoclorito es pobre desinfectante debido a su carga aniónica que no permite difundirse a través de la pared celular ( las paredes celulares están cargadas aniónicamente ) . La cantidad de HOCl en solución está en función del pH y la temperatura . Concentración disminuye con el incremento del pH y la temperatura.

Por tanto el cloro es mucho mas efectivo como biocida a pH bajos (6.0 - 7.5) , que a pH altos (pH>8).

## B ).- Clorofenoles

### *Características*

Son compuestos muy efectivos contra microorganismos anaeróbicos , hongos y algas , a pH en agua hasta 7,5 máximo , a las dosis usualmente empleadas. Sin embargo ,en dosis normales no son efectivas contra las bacterias anaeróbicas a cualquier pH , o contra hongos y bacterias anaeróbicas a pH por encima de 7,5 .

La experiencia ha demostrado que la mezcla de clorofenoles con algunos agentes surfactantes de tipo aniónico aumentan la efectividad.

### *Mecanismo*

Atraviesan la membrana celular destruyendo sistemas enzimáticos . La efectividad de estos productos depende del pH.

La actividad decrece con el incremento del pH , debido al cambio de la forma fenólica , a la menos efectiva de fenato .

## C ).- Metilen-bis-tiocianato (MTC)

### *Características*

Es un complejo orgánico que es principalmente tóxico contra las bacterias aeróbicas formadoras de slime , en el rango de pH de 6,0 - 7,5 . Por encima este pH no es muy efectivo contra estas bacterias , porque se hidroliza degradándose.

Desde el punto de vista ambiental, tiene ventaja de degradarse a pH alcalinos así

pH	Vida Media
8	5 horas
9	1 horas

Por lo tanto tiene gran aplicación en aquellos casos donde hay limitaciones estrictas en los efluentes industriales.

La presencia de metales pesados tales como el Cromo , mejora la efectividad biocida del metileno-bis(cianato) . El biocida no es efectivo contra bacterias anaeróbicas , hongos y algas .

### ***Mecanismo***

Trabajan como antimetabolitos interfiriendo con la vía química básica que los microorganismos utilizan para convertir el alimento en energía . Interfieren en la transferencia de oxígeno . Es muy efectivo para matar bacterias aeróbicas formadoras de slime pero utilizando dosis no letales inhibe la formación de masas de slime.

Es un activo no iónico y es muy resistente en soluciones acuosas a pH ácido . A pH alcalino esta molécula se degrada rápidamente en compuestos cuya toxicidad es insignificante y esto constituye una ventaja desde el punto de vista ambiental.

## **D ).- Aminas Cuaternarias**

### ***Características***

Estos compuestos son surfactantes catiónicos efectivos contra algas y bacterias ,especialmente del tipo sulforeductoras y bacterias depositadoras de Fe . Tienen poca acción sobre los hongos .

Las aminas cuaternarias son más efectivas a pH neutros o alcalinos y producen menos impacto ambiental , comparadas a otros biocidas.



**Mecanismo**

Los biocidas catiónicos pasan a través de las capas de slime de los microorganismos y reaccionan con la carga negativa asociada a la pared celular.

**E).- Oxidos de Tributyl Estaño (TBTO)****Características**

Corresponde al compuesto químico Oxido de Butilo y Estaño , y se usa en el tratamiento de aguas de enfriamiento esencialmente contra hongos , algas y bacterias anaeróbicas . No es muy efectivo contra las bacterias aeróbicas formadoras de slime.

**Mecanismo**

Probablemente su característica principal es su tendencia a absorberse sobre la madera , lo cual lo hace muy beneficioso contra hongos que crecen sobre ella deteriorándolo. No se afecta significativamente por cambios de pH en el agua de enfriamiento.

**F).- Dibromo-Nitril-Propionamida (DBNPA)****Características**

Es extremadamente efectivo contra bacterias del tipo aeróbico y anaeróbico . En el rango de pH de 6.5 a 8.5 . A dosis normales no es efectivo contra algas u hongos

Este compuesto es de acción biocida extremadamente rápida y luego se descompone o hidroliza a formas no tóxicas . Esta velocidad de descomposición aumenta con el aumento de pH ; los siguientes son los valores típicos .

pH	Temp. °C	Tiempo de vida media
7.0	30	8 horas
8.0	30	1 hora
8.5	30	0.4 horas

Esta propiedad lo hace útil en sistemas con Índice del Tiempo de Retención cortos o cuando hay regulaciones ambientales de descarga.

### ***Mecanismo***

Atacan los organismos por degradación de la pared celular. Esto causa problemas con la habilidad de la membrana de transferencia de sustancias y entrada de nutrientes a la célula . Es más estable a pH ácidos.

## **G ).- Organo Sulfurados**

### ***Características***

Este grupo de biocidas incluye isotiazolona, bistiocianato de metileno, bistriclorosulfones y carbamatos.

Las isotiazolonas son muy efectivos contra las bacterias aeróbicas , hongos y algas . Son menos efectivos contra las bacterias sulfatoreductoras (debido a la reacción con sulfuros) . Ha sido descubierto que los isotiazolonas son mucho más efectivos en sistemas de enfriamiento cuando son usados conjuntamente con el cloro.

El bistiocianato de metileno es generalmente efectivo contra bacterias aeróbicas y hongos a niveles de pH mayores que 7.5 . Es mucho menos efectivo contra las algas y las bacterias sulfatoreductoras.

Los bistriclorosulfones no son biocidas muy efectivos para tratamiento de agua de enfriamiento. Estos tienen algún efecto contra las bacterias aeróbicas pero son menos efectivos contra las bacterias sulfatoreductoras , hongos y algas.

Los carbamatos son fungicidas muy efectivos , pero menos efectivos contra las bacterias aeróbicas , sulfatoreductoras y las algas . Los carbamatos se vuelven mucho mas efectivos contra las bacterias aeróbicas cuando son usados en aguas que contienen un alto nivel de fierro , zinc y metales pesados como el cromo. Esto es debido a la hidrólisis de productos biocidas , los cuales son catalizados por iones

metálicos . Estos productos son más efectivos en altos niveles de pH actuando lentamente.

En general los biocidas mencionados son muy activos a dosis muy bajas y adecuadas para usos en plantas con altos niveles de contaminación del proceso . Efectivos contra bacterias formadores de slime , algas y hongos.

### ***Mecanismo***

Estos activos trabajan como antimetabolitos y contienen nutrientes esenciales requeridos por la célula para la elaboración de proteínas. Los organismos requieren sulfuros orgánicos para formar sulfuros contenidos en los aminoácidos , los cuales son los bloques formadores de las proteínas.

## **H ).- Otros Biocidas**

### **A. Dioxido de Cloro ( $\text{ClO}_2$ )**

El dioxido de cloro tiene mas poder oxidante que el cloro (cerca de 2.5 veces más ) , y es generalmente mas efectivo contra los microorganismos en niveles de pH mayores que 8 . La principal ventaja de usar el  $\text{ClO}_2$  en tratamientos de agua de enfriamiento es su no reacción con los fenoles y con el amonio , también su mucha menor tendencia para formar los trihalometanos que son potencialmente tóxicos cuando entran en contacto con materia orgánica soluble.

### **B. Aldehídos**

Las formas más comunes de estos biocidas son : los formaldehído y los glutaraldehídos . Los formaldehídos no son generalmente usados en sistemas de enfriamiento , porque muchas especies bacterianas se adoptan rápidamente a su presencia (algunas bacterias crecen bien en la presencia de 3000 ppm de formaldehído) , también usados como una fuente de carbono para la célula en crecimiento , esta es la razón para que su uso sea a niveles altos (10 % ) . El glutaraldehído , es mucho mas efectivo que el formaldehído , y puede ser usado efectivamente en pequeños sistemas . Es especialmente efectivo contra las bacterias sulfatoreductoras y las algas.

### C. Sales de Cobre

El sulfato de cobre es el más usado. Su toxicidad es muy grande en relación a las microalgas, pero no para los hongos y bacterias. Su efecto se ve grandemente reducido en medio alcalino creciente, su solubilidad baja a cero en pH 8 o más.

El uso de humectantes tensioactivos no-iónicos, mejora la acción biocida de las sales de cobre.

### D. Rayos Ultravioleta

Tienen excelentes propiedades biocidas, especialmente con bacterias y virus. Su éxito depende de la profundidad del agua, su coloración, y la turbidez o presencia de sólidos en suspensión, que afectan considerablemente su acción. Con filtros adecuados se eliminan sólidos en suspensión y la coloración con filtros de antracita.

La capacidad biocida y biostática de la radiación UV, radica en que altera la estructura genética ADN de los microorganismos. Lo que impide su multiplicación.

### E. Ozono

El oxígeno triatómico es un buen agente esterilizador y biocida. Disuelto en el agua, se descompone en oxígeno molecular y oxígeno atómico, que es biocida <sup>(10)</sup>

Es un gas inestable que se prepara haciendo pasar aire u oxígeno puro por un campo eléctrico de 10000 a 20000 voltios en aparatos ozonizadores de placas tubulares que producen aire ozonificado a una concentración de 10 a 20 ppm (en relación con el aire).

## 2.2.2 Biocidas a partir de Glutaraldehído como ingrediente activo

El Glutaraldehído (1,5-Pentanodial) es uno de los más efectivos microbiocidas conocidos. A través de un complejo mecanismo de reticulación, el glutaraldehído es potencialmente efectivo contra una amplia variedad de microorganismos que incluye: las bacterias Gram+ y Gram-, esporas bacteriales, bacteria sulfato reductora, mycobacteria, fungi, algas, y virus <sup>(14)</sup>.

Este mecanismo de reticulación es influenciada por el pH, tiempo, concentración, temperatura. Esos factores también influyen la interacción del glutaraldehído con otros componentes de la matriz circundante. En suma, esta misma química es responsable de la habilidad del glutaraldehído para reaccionar y remover las biopelículas adheridas. A través de la comprensión de estos factores, los cuales influyen la eficacia del glutaraldehído, se pueden variar las condiciones para maximizar su utilidad en la aplicación deseada.

El glutaraldehído ejerce su actividad biocida a través de la reacción química con grupos amino en la superficie externa de las células microbianas. Su rapidez de acción es influenciada por muchos factores, siendo el pH el más importante. Presumiblemente debido a la protonación disminuida de aminas celulares, el microbiocida actúa con más rapidez a pH más alto, entre tanto, con tiempos de contacto más largos el efecto del pH es menos sensible.

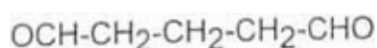
### 2.2.2.1 Resumen Histórico

El Glutaraldehído ha sido usado por más de 20 años en el combate del crecimiento de microorganismos. Su actividad antimicrobial fue documentada primero en 1957 en una patente asignada a la Union Carbide Corporation referido al control de la bacteria sulfato-reductora en agua.

Estudios concernientes a organismos de interés médico, llevaron a que el material fuera rápidamente adoptado como un esterilizante para instrumentos quirúrgicos que no pueden tolerar el popular método de esterilización con vapor. En años recientes, el glutaraldehído ha sido usado para control de microorganismos en diversos ambientes como en campos de petróleo, torres de enfriamiento industrial, viviendas de animales de granja, cuartos de lavado farmacéutico.

### 2.2.2.2 Mecanismo de Acción Biológica y Química

La molécula de glutaraldehído es simple, consiste de tres cadenas alifáticas terminada por 2 grupos aldehídos (CHO)



Los grupos terminales son químicamente reactivos, bajo las características de las transformaciones típicas de la mayoría de la química de los aldehídos. La más importante de estas transformaciones, y sobre la cual toda la importancia industrial de la química del glutaraldehído se basa, involucra la reacción de esos grupos aldehídos con aminas primarias.

### 2.2.2.3 La Molécula de Glutaraldehído

Estructuralmente, el Glutaraldehído o 1,5 - Pentanodial es una dialdehida lineal de 5 carbonos, que se muestra en la **figura 2.2.1** como la estructura I. Por razones de estabilidad, únicamente soluciones acuosas de glutaraldehído son aprovechables en usos rutinarios. En agua, el glutaraldehído existe en una muy compleja mezcla de equilibrio con las formas hidratadas mostradas en las estructuras II, III, y IV. Notar que el Hidrato cíclico (IV) existe tanto en la conformación CIS como en la TRANS. Por lo tanto, cinco especies monoméricas diferentes de glutaraldehído existen en soluciones acuosas. El hidrato cíclico o forma de pirano de glutaraldehído puede experimentar una reacción de oligomerización reversible. Las cortas cadenas oligoméricas pueden alcanzar hasta 4 a 5 a lo largo de la misma y puede contener algunos monómeros lineales. Con cuatro a cinco residuos de glutaraldehído, estos oligómeros retornan fácilmente a la forma monomérica, reactiva, de glutaraldehído bajo condiciones relativamente discretas tal como la dilución asociada con un leve calentamiento o un ligero incremento de pH.

Sin embargo, si estos oligómeros formaran reticulados en conjuntos o incrementarían significativamente en peso molecular, la naturaleza de el polímero resultante se convierte esencialmente irreversible.

Basados en estudios de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , se observa que el equilibrio del complejo monomérico cambia con la temperatura y concentración.

La influencia de la temperatura sobre una solución de glutaraldehído al 25 % ( todos los productos químicos biocidas comerciales basados en glutaraldehído son soluciones de este y las concentraciones dadas se refieren al glutaraldehído activo ), es observada en la **figura 2.2.2**. A  $25^\circ\text{C}$  una cantidad relativamente pequeña ( 5 - 6 % ), existe como monómero no hidratado ; por el contrario la mayoría del glutaraldehído existe como una

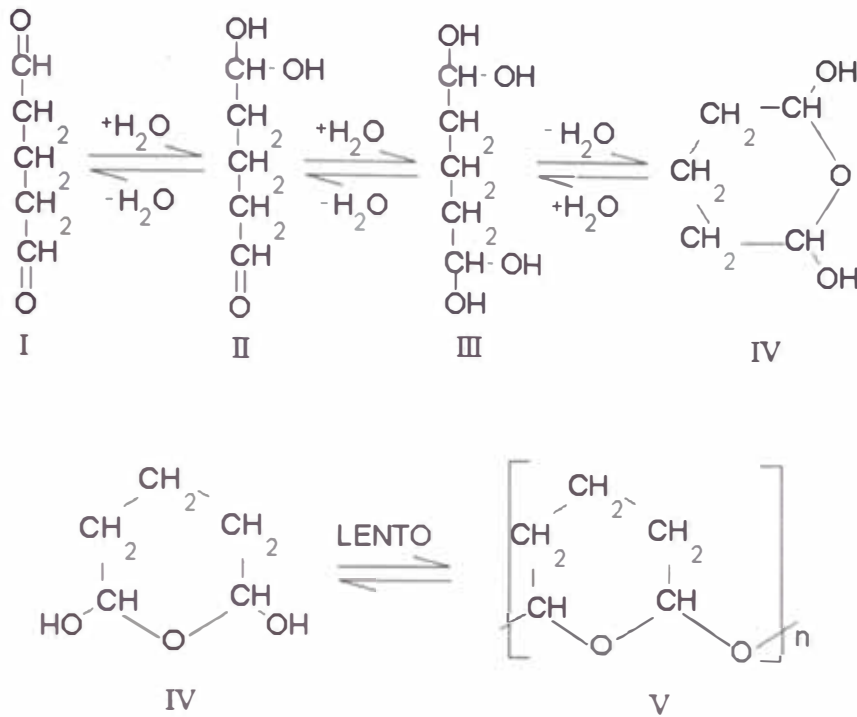


Figura 2.2.1 Estructuras del Glutaraldehído presentes en soluciones acuosas

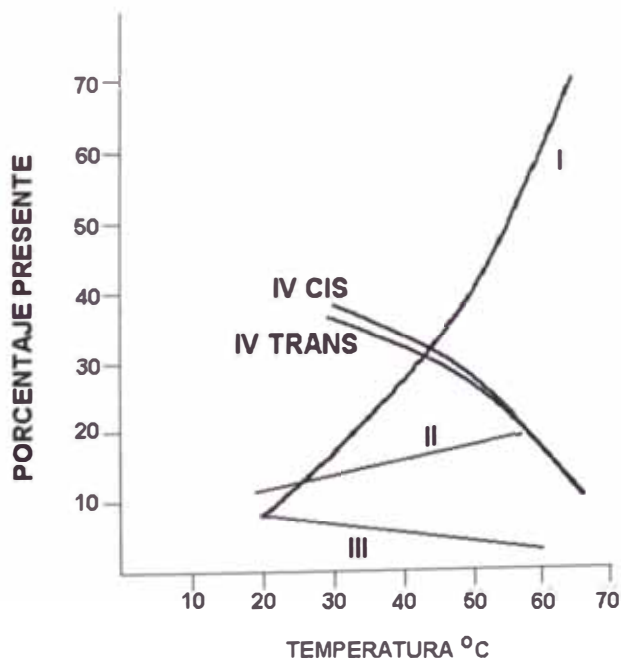


Figura 2.2.2 Composición del Glutaraldehído al 25 % versus la Temperatura

mezcla igualmente distribuida de cadenas cíclicas hidratadas de formas cis y trans . En función del incremento de temperatura , este equilibrio varía considerablemente . El glutaraldehído no hidratado es formado principalmente por el consumo de cadenas cíclicas hidratadas . La concentración también influyen en este equilibrio , como quiera que sea , el detalle de esta muy compleja relación está todavía siendo determinada.

Sorprendentemente, variaciones de pH sobre un rango de 2 - 8.5 no influyen dramáticamente este equilibrio. Este hecho provee una clave directa para la comprensión del mecanismo de acción del glutaraldehído, dado que la reactividad del Glutaraldehído es muy influenciada por el pH.

#### **2.2.2.4 Reactividad Química del Glutaraldehído**

Con esta información fundamental como antecedente, un estudio de la reactividad química del glutaraldehído creará las condiciones para el entendimiento de la mecánica de las propiedades biocidas del compuesto. La clave para la actividad del glutaraldehído es el hecho de ser un reactivo difuncional.

Como un aldehído, el glutaraldehído puede experimentar la típica química de los aldehídos incluyendo las reacciones de oxidación, reducción, y condensación.

En general, estas reacciones representan caminos potenciales para la pérdida de glutaraldehído por química productiva o propósitos antimicrobianos. Por lo tanto, el potencial para esas reacciones deben ser evaluadas y controladas para la utilización efectiva de glutaraldehído.

La química productiva y la actividad antimicrobiana del glutaraldehído es basada en la habilidad de aldehídos para experimentar reacciones de alquilación.

El Glutaraldehído puede alquilar grupos Sulfhidrilos, Carboxilos, e hidróxilos. A pesar que todos esos grupos funcionales pueden jugar un papel importante en la determinación de la actividad del glutaraldehído, aproximadamente todas las reacciones significantes comerciales de glutaraldehído pueden ser predecidas considerando su reactividad con grupos amino <sup>(14)</sup>



Bajo condiciones típicas de uso, la reactividad del glutaraldehído con grupos amino es principalmente con amonio y aminos primarios, la reacción con aminos secundarios, a pesar de ser muy lenta, puede ocurrir. Reacciones con aminos terciarios o sales de aminos cuaternario no han sido observadas.

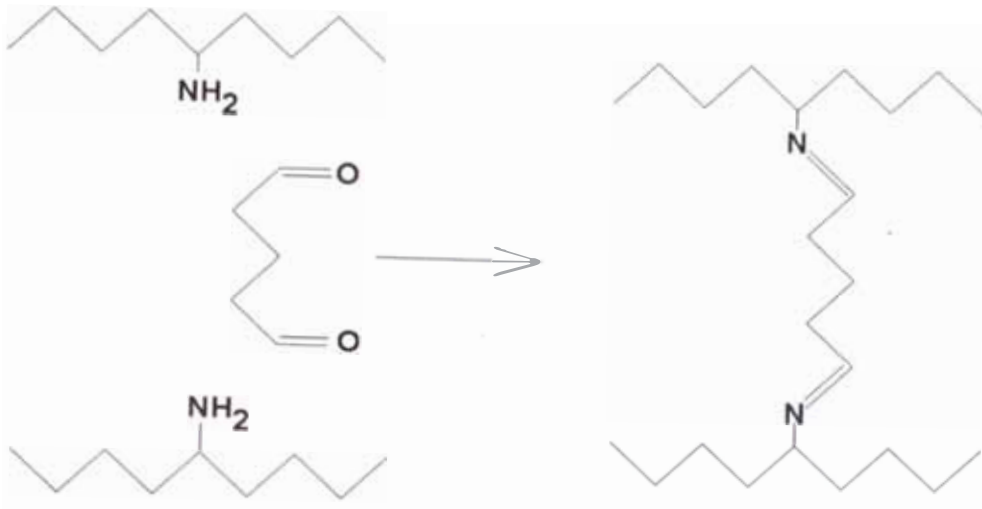
Además la reactividad del glutaraldehído con las aminos está limitado a las aminos libres mas no a las que se encuentran en forma de sales.

La naturaleza difuncional de la molécula de glutaraldehído tiene una consecuencia importante: cada final de la molécula puede reaccionar químicamente con un diferente grupo amino, de forma que el glutaraldehído puede formar un puente, o cross link entre esos grupos amino <sup>(12)</sup>.

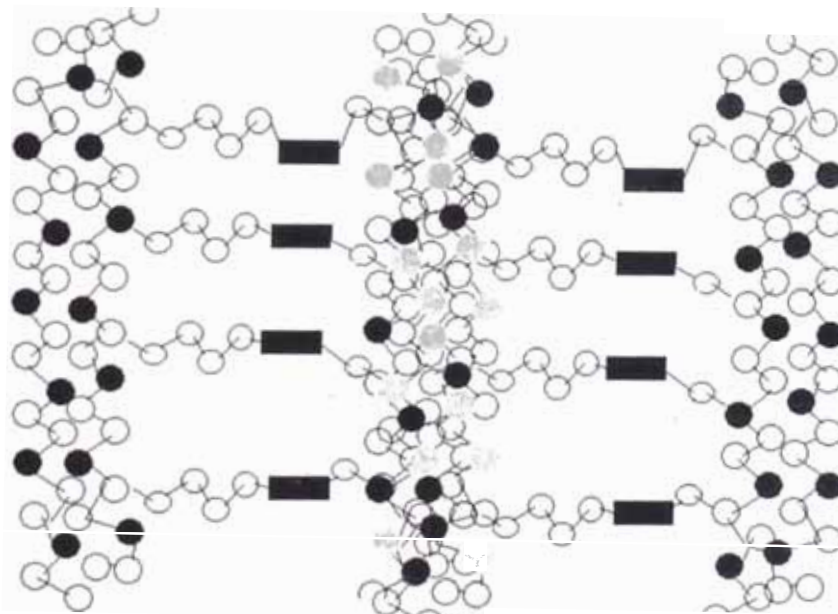
Este compuesto químico enlazador de puentes ("crosslinking"), es visto en la **figura 2.2.3**. El " eslabón " une los residuos de aminos del material a enlazarse mediante una variedad de formas dependiendo de la naturaleza del enlazador y de las condiciones de la reacción. Los puentes a enlazarse o " crosslinks" mostrados en la **figura 2.2.3** no implican tener alguna estructura molecular, simplemente sirven como un ejemplo de un típica reacción de enlazamiento de puentes.

Si la molécula a ser enlazada, mostrada en la **figura 2.2.3**, fuera colágenos la aplicación podría ser importante. El agente del glutaraldehído estabiliza el colágeno presente, como se muestra en la **figura 2.2.4**. El glutaraldehído enlaza las proteínas aisladas del colágeno y en relación a esto produce una capa externa fuerte, la cual es resistente al agua y al daño microbiológico. Los radicales de lisina son bastantes abundantes en el colágeno, y debido a la presencia de grupos amino relativamente accesibles en su átomo de carbono-ε, éste aminoácido sirve como un primer blanco para el enlazamiento del glutaraldehído <sup>(6)</sup>

Todas las proteínas están compuestas de amino ácidos, algunos de los cuales son grupos amino libres. En particular, la lisina tiene una cadena lateral la cual termina en un grupo amino primario. Dado que el glutaraldehído reacciona fácilmente con tales grupos, las proteínas son eficientemente reticuladas por el producto. Se ha pensado que las propiedades microbicidas del glutaraldehído surgen originalmente de su reacción con proteínas sobre ellas o cercana a la superficie las sus células.



**Figura 2.2.3 Enlazamiento del Glutaraldehído**



**Figura 2.2.4 Colágeno Enlazado**

Una variedad de estudios sobre la naturaleza del mecanismo de la reticulación (cross-linking) con glutaraldehído han explicado la base molecular de esta química. Un número de aldehídos pueden reticular grupos amino y así pueden actuar como agente biocida. Una comparación de la habilidad de estos aldehídos para reticular (cross-link) colágeno se da en la **figura 2.2.5**. Los aldehídos se arreglan en cadena de uno a 6 átomos de carbono. Todos, excepto el más simple miembro de la serie, formaldehído son aldehídos difuncionales lineales. La primera barra muestra una comparación de la habilidad que tienen los aldehídos para introducir reticulados (cross-links) en colágeno. Con cinco carbonos, la reactividad de reticulación es maximizada, haciendo al glutaraldehído el agente de reticulación más efectivo de la serie.

Mientras que este hecho sólo ayuda a explicar porque el glutaraldehído es superior que otros aldehídos, un punto básico incierto se encuentra en la observación de que los reticulados introducidos por el glutaraldehído son significativamente más estables en la hidrólisis tanto en agua en ebullición y dentro de ácidos débiles. La diferencia observada en la estabilidad es consistente con las diferencias del desempeño de los aldehídos en evaluaciones biológicas y químicas. Esta mayor estabilidad hidrolítica implica que la naturaleza química de los reticulados inducidos por el glutaraldehído es diferente a los inducidos por otros aldehídos.

Se sabe que los Aldehídos experimentan reacciones con aminas para formar Iminas o Bases Schiff's. De hecho, otros dialdehídos diferentes al glutaraldehído probablemente forman reticulados exactamente (cross links) tal como se muestra en el mecanismo de la **figura 2.2.3**. Estos reticulados relativamente simples no son particularmente estables para las condiciones hidrolíticas mostradas, por lo tanto, la química de los reticulados basados en glutaraldehído debe involucra un tipo diferente de enlazamiento.

En la naturaleza, los reticulados a base de glutaraldehído se muestran bastante complejos. Estos reticulados típicamente contienen de 2 a 3 residuos de Glutaraldehído por reticulado. Al menos 10 diferentes rutas moleculares de reticulados han sido observadas con glutaraldehído. El significado de cada una de las rutas dependen de las condiciones exactas

presentadas durante la reacción de reticulación. Hasta cierto grado, los reticulados de lminas simples mostradas en la **figura 2.2.3** puede jugar un rol; sin embargo, la actividad hidrolítica adicional de los reticulados se debe a la diferencia sustancial de reticulados.

Una posible ruta de reticulación se muestra en la **figura 2.2.6**. En esta ruta, dos moléculas de glutaraldehído reaccionan con dos funciones amino en forma gradual prudente para producir el esqueleto de un reticulado de biperidilo. De hecho tales sistemas pueden ser fácilmente oxidados a componentes biperidilos. Por lo tanto, la estabilidad adicional de los reticulados introducidos por glutaraldehído puede deberse a su mayor carácter estable piridilo y biperidilo. Presumiblemente estos reticulados extremadamente estables sirve como base para el superior desempeño biológico y químico observado con glutaraldehído.

En forma general, la susceptibilidad de los microorganismos a las químicas biocidas varía con su madurez. Los microorganismos son más susceptibles mientras tengan menor tiempo de vida. Al madurar se vuelve un organismo vegetativo y su resistencia se incrementa. Los organismos capaces de producir esporas son conocidos como los más resistentes dentro de la vida microbiana.

La estructura exacta de las paredes celulares y membranas de microorganismos varían significativamente de un tipo de organismo a otro. Independientemente del microorganismo particular que esta siendo observado, sin embargo, todas contienen aminoácidos y por lo tanto contiene sitios para la reacción potencial con glutaraldehído (**Ver figura 2.2.7**). Organismos con diferentes característica estructurales pueden diferir en la accesibilidad de sus residuos amino, sin embargo, todos contienen alguna funcionalidad amino y son así susceptibles al ataque por glutaraldehído.

Este hecho explica el amplio espectro de acción microbiocida observada por el glutaraldehído.

# CAPITULO III

## 3.1 Procedimiento Experimental

Se realizó la evaluación experimental de diferentes productos biocidas comerciales disponibles en el mercado, a fin de determinar comparativamente su efectividad para eliminar el bioensuciamiento y sus problemas asociados como : corrosión microbiológica y el aumento a la resistencia al flujo hidrodinámico en las líneas de recirculación de sistemas de enfriamiento abiertos. Finalmente se realizó una serie de pruebas para evaluar la actividad del Glutaraldehído en función del pH y la concentración

### 3.1. 1 Descripción del Sistema de Recirculación

A continuación se detalla brevemente las características del sistema construido. Las condiciones de diseño y cálculos se encuentran en el **Anexo 1 (Diseño y construcción del circuito piloto de recirculación abierta)**.

#### A. Condiciones Básicas

1.- El sistema permite que el cual el agua de enfriamiento tenga contacto, con los cupones, los colectores de biopelícula y la sección de caída de presión, que servirán para determinar la velocidad de corrosión, la pérdida de biopelícula y el recuento microbiológico.

2.- El sistema cuenta con dos sectores para muestrear biopelículas. Consiste en una sucesión de varias tes ( 2 tramos con 7 tes cada una) de PVC, el depósito gelatinoso se establece en las tapas o colectores de slime ( **Ver Anexo 2C Detalle de las Secciones de Muestreo de Biopelículas y Recuento Bacterial**). Un colector de slime que no figura en la sección de muestreo de biopelículas se utiliza para realizar el recuento de las bacterias sulfato reductoras y las bacterias formadoras de slime ( Ver también **Anexo 2C**)

3.- El material de los cupones de corrosión serán del mismo material que se utiliza en la mayoría de los sistemas de enfriamiento industriales: acero al carbono.

4.- La sección de caída de presión debe permitir la medición indirecta de la pérdida de biopelícula. Consta de 2 manómetros, 2 tubos de acero al carbono de ½ y 1 pulgada unidos por una reducción (un manómetro conectado a cada tubo). Ver **Anexo 2B**.

5.- El agua de enfriamiento a utilizar presentará las siguientes características:

- Condiciones ligeramente básicas ( Agua de Pozo )
- Contaminación de Bacterias Formadoras de Slime
- Contaminación con Bacterias Sulfatorreductoras
- Presencia de Nutrientes Microbiológicos

6.- El agua del sistema fluirá por el circuito a una velocidad dentro del rango entre 1.5 y 3 m/s, rango de velocidad en el que se trabaja generalmente en la industria.

7.- El circuito de la planta piloto será de recirculación abierta a la atmósfera, permitiendo el contacto y absorción del oxígeno del aire.

8.- El criterio para determinar la eficacia del biocida esta dado por la relación:

$$E = (MPN^{\circ} - MPN) / MPN^{\circ}$$

Donde :

MPN<sup>°</sup> : Numero de Unidades de Colonias Formadoras de Bacterias por mililitro iniciales

MPN : Numero de Unidades de Colonias Formadoras de Bacterias por mililitro finales

Adicionalmente se puede medir la performance del biocida con respecto a la pérdida de bioensuciamiento y la velocidad de corrosión.

$$P = (W^0 - W) / W^0$$

Donde :

$W^0$  : Peso Seco de Biopelícula por unidad de área inicial

$W$  : Peso Seco de Biopelícula por unidad de área final

$$V_{\text{corr}} = (V^0 - V) / V^0$$

Donde :

$V^0$  : Velocidad de Corrosión inicial

$V_{\text{corr}}$  : Velocidad de Corrosión final

9.- Para el recuento microbiológico se aplicará la técnica del número más probable (NMP) para las bacterias sulfatorreductoras y el método de Recuento en Placa para las bacterias formadoras de slime. La velocidad de corrosión se medirá por el método gravimétrico, finalmente para estimar la pérdida de bioensuciamiento se realizarán pruebas por pérdida de peso y otras complementarias: Sólidos Suspendidos , Caída de Presión.

## **B. Características Generales**

### **1.- Diámetro de los Tubos en el Circuito**

El diámetro de los tubos del circuito es de 1 pulgada de diámetro nominal.

### **2.- Velocidad de Flujo**

Se trabajará con velocidades de 1.5 y 3 metros por segundo. Sólo se aplicará una velocidad diferente para estudiar su influencia en la pérdida de bioensuciamiento y la eficacia del biocida.

### **3.- Volumen del tanque del agua**

Se tiene un tanque de 220 litros de capacidad (0.57 m de diámetro y 0.88 m de altura). Para la evaluación experimental se trabaja con un volumen neto de 150 litros (0.60 m de altura).

#### 4.- Potencia de la Bomba

Se tiene una Electrobomba PENTAX CM-50 de 0.5 HP de potencia y proporciona un caudal máximo de 1.5 litros por segundo a 12 metros de altura ( *Ver Anexo 8A Características Técnicas de la Bomba*).

#### 5.- Material de Construcción del Circuito

Los tubos, accesorios (codos, tes, bridas, etc.) y válvulas son de PVC. El tanque es de fierro negro recubierto internamente con brea.

Los cupones de corrosión son de acero al carbono ASTM A 36.

#### 6.- Disposición del Circuito

Las tuberías están colocadas en un panel vertical de madera. *Ver Anexo 2A Detalle de la Disposición del Circuito de Recirculación* .

### 3.1.2 Diseño de experimentos

Evaluación de biocidas a base de glutaraldehído en una planta piloto, manteniendo calidad de agua, presión y temperatura constantes.

Variable

Flujo de Agua = ( 1.5 m/s , 3 m/s )

Concentración del Biocida = ( 0, 75 , 100, 150) PPM

De esta manera se requiere realizar 8 corridas experimentales

FLUJO (m/s)		CONCENTRACION (PPM)		
3	0	75	100	150
1.5	0	75	100	150

Durante cada corrida se evaluó

- Velocidad de Corrosión
- pH
- Conductividad
- Población Bacteriana (\*)
- Consumo de Glucosa (\*)



- Determinación de Pérdida de Biopelícula (\*)
- Sólidos Suspendidos (\*)
- Caída de Presión (\*)

(\*) Estas variables se determinan a partir del momento en que se inoculan los cultivos de bacterias y los elementos nutrientes.

### 3.1.3 Descripción de las Pruebas

#### A. Disminución de la Población Bacteriana

##### A.1.- Recuento Microbiológico

Esta prueba consiste en medir la población bacteriana contenida en las biopelículas. Para ello se cuenta con un sector de muestreo que recoge la biopelícula formada sobre una tapa colectora ( Ver **Anexo 2C**); para poder retirar la muestra se cierra la llave, se retira la tapa y luego se extrae su contenido para el análisis en tubos de ensayo esterilizados pudiéndose estimar fácilmente el volumen extraído, finalmente se retorna la tapa para futuros muestreos.

Para realizar el recuento microbiológico se aplica la técnica del número más probable (NMP) y el método de recuento en placa

Los grupos a considerar en el estudio son:

- Bacterias Formadoras de Slime (BFS)
- Bacterias Sulfatorreductoras (BSR)

El método NMP se detalla en el **Anexo 3A** ( aplicado a las BSR), el método de recuento en placa en el **Anexo 3C** (aplicado a las BFS).

Además el procedimiento, materiales y reactivos utilizados para los casos de las bacterias sulfatorreductoras y las bacterias aeróbicas (BFS), se detallan en los **anexos 3B y 3D** respectivamente.

##### A.2.- Consumo de Glucosa

Debido a que el consumo de glucosa es una indicación de la actividad bacteriana, se puede estudiar el impacto de la concentración del biocida usando el consumo de glucosa por los organismos. Para ello se mantiene

una concentración constante de glucosa al inicio de cada semana (50mg/l) y se monitorea el remanente de glucosa con un equipo especial que determina la concentración. El procedimiento de esta prueba se describe en el **Anexo 4A Determinación del Consumo de Glucosa** , así mismo la información técnica del equipo para medir el consumo de glucosa se muestra en el **Anexo 8B**.

## **B. Remoción de Biomasa**

Estas pruebas tiene por objetivo medir la eficacia del biocida en razón a la pérdida de bioensuciamiento. Para poder evaluar las biopelículas formadas sobre las superficies tubulares con respecto al tiempo se requiere de un dispositivo de muestreo que las colecte, pues es difícil obtener un sistema de muestreo tubulares (secciones de tubo), pues al retirarlos periódicamente, las biopelículas se romperían con facilidad y los resultados serían altamente erróneos. Adicionalmente el sistema de colección debe permitir la acción erosiva del agua sobre la biopelícula acercándose a la acción del agua en superficies tubulares y para ello el tamaño y volumen de los dispositivos de muestreo deben ser pequeños, además deben estar uno tras de otro, para que el agua al recorre esta sección encuentre imperfecciones continuas que generen un efecto ondulante sobre la masa de biopelícula colectada.

### **B.1.- Pruebas de Gravimetría (Remoción de la Biopelícula)**

El sistema cuenta con dos secciones de puntos de muestreo. Cada sección consiste en una serie de tes de PVC consecutivas ( 7 tes de PVC) unidos por nipples roscados de acero galvanizado, en la parte inferior de estas se encuentran las tapas, sobre estas se depositan el material gelatinoso conocido como slime (biopelícula).

Mediante esta prueba se obtiene el peso seco de la biopelícula contenida en las tapas de muestreo. Se remueve mecánicamente la biopelícula de la tapa y se coloca en un crisol el cual fue previamente secado y pesado. La muestra se seca a 105 °C durante 24 horas hasta lograr un peso constante. La densidad másica se calcula dividiendo el peso seco entre el area de la

tapa muestreada. se calculan y expresan en unidades de  $\text{g/cm}^2$ . El procedimiento de esta prueba se describe en el **Anexo 5B**.

### **B.2.- Sólidos Suspendidos**

La remoción de biomasa también puede ser monitoreada por la determinación de la variación de los sólidos en la corriente del circuito. En una biopelícula en equilibrio, la velocidad de remoción de biomasa es relativamente constante, este fenómeno es debido principalmente al proceso natural de la erosión hidrodinámica y es una función del esfuerzo cortante ejercido sobre las biopelículas. La influencia del biocida esta en que el nivel de sólidos suspendidos aumenta ayudado por el flujo del circuito. El procedimiento de esta prueba se describe en el **Anexo 5A** y es similar al anterior.

### **B.3.- Caída de Presión**

Se tiene una sección de 0.5 pulgada de diámetro, aquí se crea un diferencial de presión teniendo en cuenta que el sistema tiene tubos de 1 pulgada. Esta diferencia de presión debido a la carga cinética y a la carga por fricción alcanza valores de 0,5 psi para  $V \text{ flujo} = 3 \text{ m/s}$  y 0,2 psi para  $V \text{ flujo} = 1.5 \text{ m/s}$ . La pérdida de bioensuciamiento se mide indirectamente monitoreando los cambios de la resistencia a la fricción al fluido a través de la sección tubular de caída de presión.

La caída de presión nos indica como cambia esta resistencia por acción del crecimiento o desprendimiento de la biopelícula y la relación que tienen con la acción del biocida favorecido por la erosión hidrodinámica. El detalle de la sección se muestra en el **Anexo 2B**.

## **C. Velocidad de Corrosión**

Como la velocidad de corrosión mide la disolución del metal en el tiempo, debido a fenómenos electroquímicos ocurridos en la interfase líquido-metal, el objetivo de esta prueba es medir la eficacia del biocida por el efecto de

reducción de la velocidad de corrosión, en razón a la disminución indirecta de la presencia de metabolitos corrosivos contribuidos por grupos bacteriales que lo generan, como consecuencia de la acción letal del biocida sobre los microorganismos. La importancia de esta prueba radica también en determinar hasta que punto la corrosión existente en el sistema es atribuible a la contaminación microbiana.

El detalle de la sección de cupones de corrosión se muestra en el **Anexo 2D**.

### **Método Gravimétrico**

Este método consiste de un cupón sumergido en un medio corrosivo. El cupón debe ser preparado previamente a su instalación. Al final de la prueba el cupón es sometido a un proceso de eliminación de productos de corrosión, antes de ser pesado finalmente. Para las pruebas de este método se toma como base las normas ASTM 2688-79 y ASTM G-81

La norma ASTM 2688-79 nos determina la corrosividad del agua, en diferentes condiciones, para lo cual recomienda en cada caso un sistema de equipos para colocar el cupón, previsión de interferencias, sustancias para una preparación de superficie, forma y dimensión del cupón, el procedimiento de la norma, el cálculo e interpretación de resultados del peso inicial libre de productos de corrosión con respecto al peso final. La Norma G1- 81 nos indica exclusivamente como se prepara, limpia y evalúa los resultados de pérdida de peso. El procedimiento de esta prueba se describe en el **Anexo 6A**.

### **D.- Actividad del Glutaraldehído en función del pH**

El objetivo de estas pruebas es complementar el estudio de la acción del Glutaraldehído en condiciones dinámicas, con ensayos de laboratorio que permitan evaluar la sensibilidad que tiene el producto con el pH, factor determinante, en la actividad de este biocida. La influencia sobre la actividad biocida se verá reflejada en los resultados de la concentración y tiempo de exterminio

#### D.1.- Concentración versus pH

Esta prueba tiene por objetivo encontrar el pH que hace inactivo al Glutaraldehído y la concentración en la que el efecto letal es mínimo. Para ello se utiliza 12 tubos probeta de 10 ml, estos serán llenados con solución de caldo de cultivo de tioglicolato (Información Técnica en el *Anexo 4B*) y glutaraldehído en el porcentaje deseado ( 9 ml ) . Para obtener el pH deseado se agrega gotas de HCl 0.5 N y NaOH 0.5 N y se verifica con un medidor de pH digital. Al primer tubo se le agrega 1 ml de solución altamente contaminada con BSR. Posteriormente se deja incubando durante 15 días y se observa si existe coloración negruzca en los tubos. La coloración negruzca indica la presencia de colonias de BSR y se dará positivo al tubo que presente esta característica.

#### D.2.- Tiempo de Exterminio versus pH

Esta prueba tiene por objetivo encontrar la dependencia del Tiempo de Exterminio con el pH. Para ello se preparan 3 medios que tengan diferentes pH y una concentración bacteriana inicial de  $5.4 \times 10^8$  de BSR. Posteriormente se aplica una concentración de Biocida (Glutaraldehído) de 50 ppm , al cabo de cierto tiempo se muestrea a los tres medios a la vez y se determina la concentración bacteriana por el método NMP.

### 3.1.4 Secuencia Experimental

#### A.- Arranque del Sistema

El tanque del sistema de recirculación es llenado con 150 lts de agua de pozo cuyas características químicas se muestran en la *tabla 3.1.1* . El sistema bajo estas condiciones recircula durante una semana. Al término de la semana se realizan las siguientes determinaciones

- Velocidad de Corrosión
- pH
- Conductividad

Tabla 3.1.1

Variable	Ion	Valor	Unidad
Cloruros	Cl <sup>-</sup>	160	ppm
Sulfatos	SO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	240	ppm
Calcio	Ca <sup>++</sup>	175	ppm
Fierro	Fe <sup>++</sup>	0.05	ppm
Potasio	K <sup>+</sup>	16	ppm
Sodio	Na <sup>+</sup>	550	ppm
Magnesio	Mg <sup>++</sup>	7	ppm
Sílice	SiO <sub>2</sub>	14.3	ppm
Dureza Total		700	ppm CaCO <sub>3</sub>
Alcalinidad M		160	ppm CaCO <sub>3</sub>
Conductividad		2196	uS/cm
Temperatura		18	° C
STD		1100	mg/l
STS		7	mg/l
pH		8,3	
Indice de Estabilidad		6,5 <sup>(*)</sup>	

(\*) El Agua es incrustante y corrosiva a la vez.

## B.- Periodo de Incubación y Crecimiento Bacterial

Luego del período de arranque, se agrega 1/2 lt de Cultivo de BSR y 1/2 lt de cultivo de BFS, además de 39.55 g. de nutriente (Caldo de Tioglicolato), mezclándose homogéneamente durante la recirculación (Ver **Anexo 3E**). El primer día se toma una muestra para evaluar la calidad del agua ( Ver **tabla 3.1.2**) . Este período demora 2 semanas :

- Crecimiento Bacterial (Cada 2 días )
- Consumo de Nutrientes (Cada 2 días )
- Velocidad de Corrosión (Cada 2 días )
- pH ( Cada 2 días)
- Conductividad (Cada 2 días)

Tabla 3.1.2

Variable	Ion	Valor	Unidad
Cloruros	Cl <sup>-</sup>	180	ppm
Sulfatos	SO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	250	ppm
Calcio	Ca <sup>++</sup>	175	ppm
Fierro	Fe <sup>++</sup>	0.1	ppm
Potasio	K <sup>+</sup>	16	ppm
Sodio	Na <sup>+</sup>	550	ppm
Magnesio	Mg <sup>++</sup>	7	ppm
Sílice	SiO <sub>2</sub>	14.3	ppm
Dureza Total		700	ppm CaCO <sub>3</sub>
Alcalinidad M		160	ppm CaCO <sub>3</sub>
Conductividad		2180	uS/cm
Temperatura		19	° C
STD		1095	mg/l
STS		11	mg/l
pH		8,5	
Indice de Estabilidad		6 (*)	

(\*) El Agua es incrustante

### C.- Selección del Biocida

Luego del período de incubación se toma muestras del agua del sistema para determinar : Concentración Mínima Letal del Biocida, Tiempo Mínimo Letal.

Para seleccionar el biocida más adecuado para el agua del sistema se requiere:

- Determinar las concentraciones mínimas para eliminar la contaminación microbiológica.
- Determinar el tiempo mínimo de exterminio bacterial con las concentraciones antes mencionadas.
- El producto químico que obtenga el menor tiempo letal será el seleccionado

### - Concentración Mínima Letal del Biocida ( Kill Test)

Tiene la finalidad de determinar la dosis mínima de cada producto para eliminar las BSR y BFS.

La prueba consiste en agregar a muestras de agua conteniendo BSR y BFS dosificaciones de los productos biocidas (una concentración de biocida por muestra de agua). Las muestras permanecen expuestas a los productos biocidas un periodo de tiempo que estará definido en base a datos de trabajos experimentales anteriores. Posteriormente a este periodo de exposición, se evalúa la población bacteriana remanente en cada muestra de agua, aplicando el método NMP y el recuento en placa.

De esta forma se determina la efectividad de eliminación bacteriana de cada producto biocida bajo diferentes concentraciones. Las concentraciones de los biocidas que se probaron fueron : 75, 100, 150 y 200 ppm. El Tiempo de exposición fue de 12 horas.

### - Tiempo Mínimo Letal (Time Kill Test)

Esta prueba es útil para determinar el tiempo requerido por cada producto para conseguir el exterminio total de las bacterias perjudiciales. La prueba consiste en agregar una dosis de biocida a la muestra de agua del sistema para posteriormente analizarla a diferentes periodos de tiempo de exposición y determinar la población remanente de BSR y BFS. En esta prueba la dosis evaluada para cada producto biocida fue la letal que fue determinada en la prueba anterior. Los tiempos de exposición evaluados fueron : 3, 6, 12 y 24 horas.

## D.- Corridas Realizadas en la Planta Piloto

### D.1 .- Descripción General

Duración de cada Corrida : 7 días por cada concentración de biocida

Material del Cupón : Acero al carbono ASTM A 36.

Agua de Enfriamiento : Agua de Pozo. Análisis Químico en la Tabla 3.1.1.

Velocidad del flujo del Agua de Enfriamiento : 1.5 y 3 m/s



Temperatura del Agua de Enfriamiento : 18 °C

Programa Biocida : Glutaraldehído con Amonio Cuaternario.

## D.2 .- Número Total de Corridas Realizadas

En el siguiente cuadro se muestra el número de corridas realizadas

**Tabla 3.1.3**

No de Semana	Tipo de Agua	Flujo	PPM Biocida	Etapas
1	P	3	0	Arranque
2	P + B + N	3	0	Incubación
3	P + B + N	3	0	Corrida 1
4	P + B + N	3	75	Corrida 2
5	P + B + N	3	100	Corrida 3
6	P + B + N	3	150	Corrida 4
7	P + B + N	1.5	0	Corrida 5
8	P + B + N	1.5	75	Corrida 6
9	P + B + N	1.5	100	Corrida 7
10	P + B + N	1.5	150	Corrida 8

P = Agua Dura de Pozo

B = Cultivo Bacterial

N = Elementos Nutrientes

## D.3 .- Datos Obtenidos en las Corridas

Los datos obtenidos en cada corrida son:

- 1.- Medida del peso final de cada cupón después de la corrida (Velocidad de Corrosión)
- 2.- Conductividad del Agua
- 3.- pH
- 4.- Recuento Bacterial
- 5.- Consumo de Nutrientes
- 6.- Caída de Presión
- 7.- Sólidos Suspendidos
- 8.- Peso de Biopelícula Seca (Remoción Biopelícula)

Tabla 3.1.4

Semana	Flujo (m/s)	Biocida PPM	Frecuencia Muestreo	Pruebas a realizar
Arranque	3	0	1	VC, pH, C
Incubación	3	0	3	VC, pH, C, BSR, BSF, GLU,
3 <sup>ra</sup>	3	0	3	VC, pH, C, BSR, BSF, GLU, RB <sup>(1)</sup> , SS, DP
4 <sup>ta</sup>	3	75	3	VC, pH, C, BSR, BSF, GLU, RB <sup>(2)</sup> , SS, DP
5 <sup>ta</sup>	3	100	3	VC, pH, C, BSR, BSF, GLU, RB <sup>(2)</sup> , SS, DP
6 <sup>ta</sup>	3	150	3	VC, pH, C, BSR, BSF, GLU, RB <sup>(2)</sup> , SS, DP
7 <sup>ma</sup>	1.5	0	3	VC, pH, C, BSR, BSF, GLU, RB <sup>(1)</sup> , SS, DP
8 <sup>va</sup>	1.5	75	3	VC, pH, C, BSR, BSF, GLU, RB <sup>(2)</sup> , SS, DP
9 <sup>na</sup>	1.5	100	3	VC, pH, C, BSR, BSF, GLU, RB <sup>(2)</sup> , SS, DP
10 <sup>ma</sup>	1.5	150	3	VC, pH, C, BSR, BSF, GLU, RB <sup>(2)</sup> , SS, DP

Velocidad de Corrosión = VC; pH = pH; Conductividad = C; Remoción Biopelícula= RB  
 Sólidos Suspendidos = SS; Caída de Presión = DP; Recuento Bacterial BSR = BSR;  
 Recuento Bacterial BFS = BFS; Consumo de Glucosa = GLU

<sup>(1)</sup> Significa sólo un muestreo a la semana , <sup>(2)</sup> Significa 2 muestreos a la semana

## 3.2 Cálculos a partir de los datos obtenidos

A continuación se muestra algunos ejemplos de cálculo para los casos de Pérdida de Biopelícula y Velocidad de Corrosión, dado que estos datos no se obtienen directamente.

### 3.2.1 Pérdida de Biopelícula

#### (1) Peso Seco

Se obtiene como resultado de la prueba de humedad ( *Anexo 5B* ). Como se explicó anteriormente la masa orgánica es retirada de la tapa colectora, se coloca en un crisol y se seca en la estufa. Se pesa cada cierto tiempo, cuando la diferencia de las dos últimas pesadas sea casi cero, entonces la prueba concluye.

Por ejemplo

14.896 gr.

#### (2) Área de la Tapa Recolectora

Se mide con el vernier el diámetro interno de la tapa y la altura, obteniéndose luego el área total.

Por ejemplo

19.83 cm<sup>2</sup>

#### (3) Remoción de Biomasa

Dividiendo ambos resultados obtenemos : 0.751 g/ cm<sup>2</sup>

Este es el primer valor reportado de la tabla 4.1.5.

### 3.2.2 Velocidad de Corrosión

A continuación se mostrará los cálculos realizados para determinar el primer valor de velocidad de corrosión de la tabla 4.1.6

**(1) Peso Inicial**

Cada prueba tiene 2 cupones, luego que se ha decapado el oxido de acuerdo al **Anexo 6A** . Por ejemplo :

Cupón 1 : 15.5016 gr.

Cupón 2 : 15.8233 gr.

**(2) Pérdida de peso**

Es la que se obtiene del gráfico (pérdida de peso vs. tiempo de decapado, **Anexo 6B** ) mediante la norma establecida en el Anexo 6A para estas pruebas. Por ejemplo :

Cupón 1 : 0.2310 gr.

Cupón 2 : 0.2480 gr.

**(3) Área del Cupón**

Es la que se obtiene midiendo con un vernier. Por ejemplo :

Cupón 1 : 18.29 cm<sup>2</sup>

Cupón 2 : 18.72 cm<sup>2</sup>

**(4) Tiempo**

Es el tiempo transcurrido de toda la prueba en horas . En este caso es: 156 horas

**(5) Velocidad de Corrosión**

Se obtiene la velocidad de corrosión en MPY (milésimas de pulgada por año) con la siguiente relación

$$V \text{ (mpy)} = 438223.5 \text{ PERDIDA DE PESO} / \{ \text{ÁREA DEL CUPÓN} \cdot \text{TIEMPO} \}$$

Pérdida en Peso : Gramos

Área del Cupón : cm<sup>2</sup>

Tiempo : Hora

Densidad del Fe : 7.87 gr/ cm<sup>3</sup>

Aplicamos la relación anterior para calcular la velocidad de corrosión en ambos cupones y luego la promediamos:

**Cupón 1 :**

$$V \text{ (mpy)} = (438223.5) \cdot (0.2310) / \{ (18.29) \cdot (156) \}$$

$$V = 35.48 \text{ mpy}$$

**Cupón 2 :**

$$V \text{ (mpy)} = (438223.5) \cdot (0.2480) / \{ (18.72) \cdot (156) \}$$

$$V = 37.21 \text{ mpy}$$

Luego la velocidad promedio del sistema esta dada por:

$$V_{\text{corr}} = (35.48 + 37.21) / 2$$

$$\mathbf{V_{\text{corr}} = 36.35 \text{ mpy}}$$

### 3.2.3 Determinación de la Eficacia del Biocida

Se empleó para esta evaluación las siguientes relaciones

$$E = (MPN^{\circ} - MPN) / MPN^{\circ}$$

$$P = (W^{\circ} - W) / W^{\circ}$$

$$V_{\text{corr}} = (V^{\circ} - V) / V^{\circ}$$

Donde :

MPN<sup>°</sup> : Nro de Unidades de Colonias Formadoras de Bacterias por mililitro inicial

MPN : Nro de Unidades de Colonias Formadoras de Bacterias por mililitro final

W<sup>°</sup> : Peso Seco de Biopelícula Inicial por unidad de área

W : Peso Seco de Biopelícula Final por unidad de área

V<sup>°</sup> : Velocidad de Corrosión Inicial

V : Velocidad de Corrosión Final

Del **Anexo 7** ( Eficacia del Glutaraldehído )

Tomando sólo los casos iniciales : flujo 3 m/s y 75 ppm de Biocida

***Poderío Letal***

$$E_{BFS} = (1.6 \times 10^9 - 6 \times 10^6) / 1.6 \times 10^9$$

$$E_{BFS} = 99.63 \%$$

$$E_{BSR} = (9.2 \times 10^8 - 2.2 \times 10^4) / 9.2 \times 10^8$$

$$E_{BSR} = 99.99 \%$$

***Eliminación de Bioensuciamiento***

$$P = (0.751 - 0.659) / 0.751$$

$$P = 12.25 \%$$

***Velocidad de Corrosión***

$$V_{corr} = (44.6 - 42.3) / 44.6$$

$$V_{corr} = 5.16 \%$$

# CAPITULO IV

## 4.1 Resultados

### 4.1.1 Selección del Biocida

Las muestras de agua con las que se evaluaron los biocidas tenían una concentración de BSR de  $5.4 \times 10^8$  y  $2.4 \times 10^9$  de BFS unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc / ml) . Valor máximo alcanzado durante el periodo de Incubación y Crecimiento.

#### 4.1.1.1 Concentración Mínima Letal ( Kill Test )

Los resultados están expresados en ufc/ml . El tiempo de exposición fue de 12 horas.

Tabla 4.1.1

Conc.	PRODUCTOS							
	A		B		C		D	
PPM	BSR	BFS	BSR	BFS	BSR	BFS	BSR	BFS
75	14	9	26	17	$5.4 \times 10^2$	$2.2 \times 10^2$	43	33
100	< 2	4	12	7	$3.5 \times 10^2$	$1.1 \times 10^2$	9	21
150	< 2	< 2	< 2	< 2	$2.2 \times 10^2$	63	4	9
200	< 2	< 2	< 2	< 2	$1.1 \times 10^2$	31	4	2

Estos resultados se muestran en los gráficos : 4.1.1, 4.1.2

#### 4.1.1.2 Tiempo Mínimo Letal ( Time Kill Test )

Se aplica las dosis letales de cada producto .

# Concentración Mínima Letal

CASO : Bacterias Sulfato Reductoras

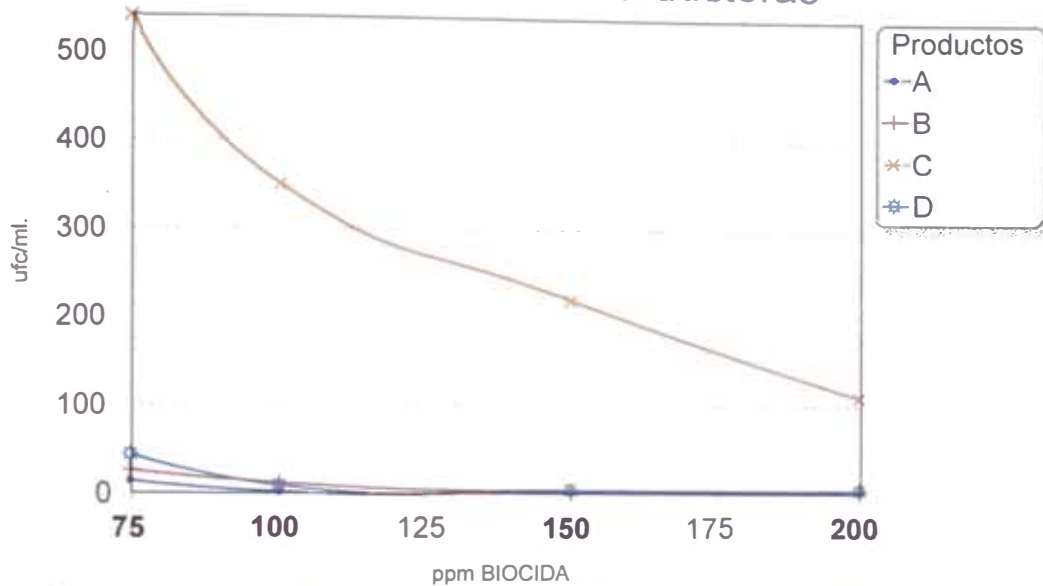


Gráfico 4.1.1 Concentración Mínima Letal (Kill Test) - Caso Bacterias Sulfato Reductoras. Tiempo de Exposición : 12 horas

# Concentración Mínima Letal

CASO : Bacterias Formadoras de Slime

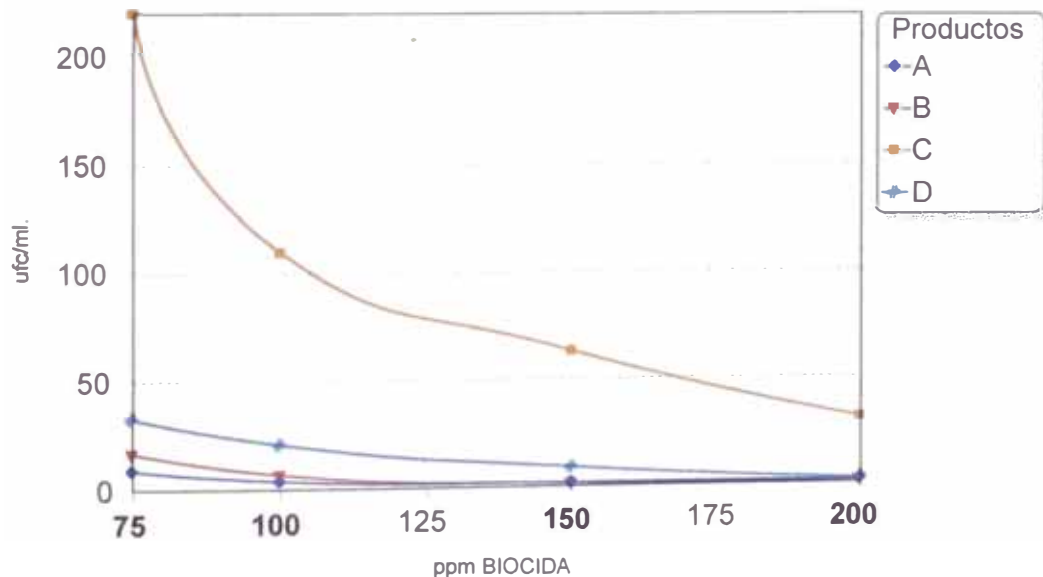


Gráfico 4.1.2 Concentración Mínima Letal (Kill Test) - Caso Bacterias Formadoras de Slime. Tiempo de Exposición : 12 horas



<u>PRODUCTO</u>	<u>DOSIFICACIÓN</u>
A	100 PPM
B	200 PPM
C	200 PPM
D	200 PPM

Los resultados se muestran en la siguiente tabla

**Tabla 4.1.2**

Tiempo	PRODUCTOS							
	A		B		C		D	
	BSR	BFS	BSR	BFS	BSR	BFS	BSR	BFS
Hr								
3	< 2	< 2	12	9	$2.4 \times 10^2$	63	63	22
6	< 2	< 2	< 2	4	$1.7 \times 10^2$	33	11	12
12	< 2	< 2	< 2	< 2	$0.7 \times 10^2$	11	5	9
24	< 2	< 2	< 2	< 2	12	5	< 2	< 2

Estos resultados estan representados en las figuras: 4.1.3, 4.1.4

Los productos que se evaluaron fueron los siguientes

<u>Producto</u>	<u>Agentes Activos</u>
A	Glutaraldehído 50%, Amonio Cuaternario 15 %
B	Glutaraldehído 50%
C	Isotiozolona 45%
D	Amonio Cuaternario 50%

El resto de pruebas se realizaron con el PRODUCTO A por ser este el mas eficiente en la eliminación de la contaminación microbiana.

# Tiempo Mínimo Letal

CASO : Bacterias Sulfato Reductoras

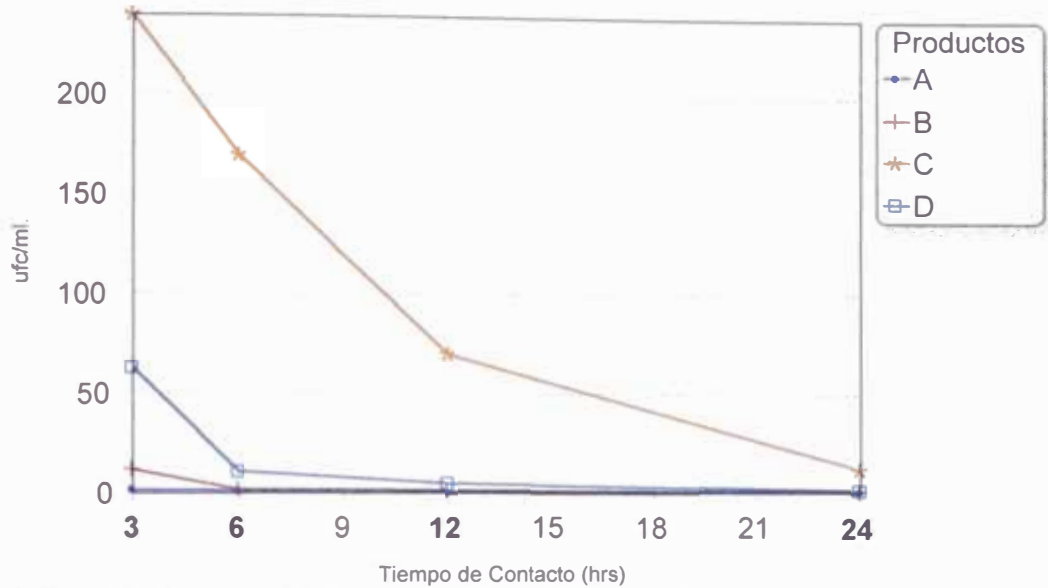


Gráfico 4.1.3 Tiempo Mínimo Letal ( Time Kill Test) - Caso Bacterias Sulfato Reductoras. Tiempo de Exposición : 24 horas

# Tiempo Mínimo Letal

CASO : Bacterias Formadoras de Slime

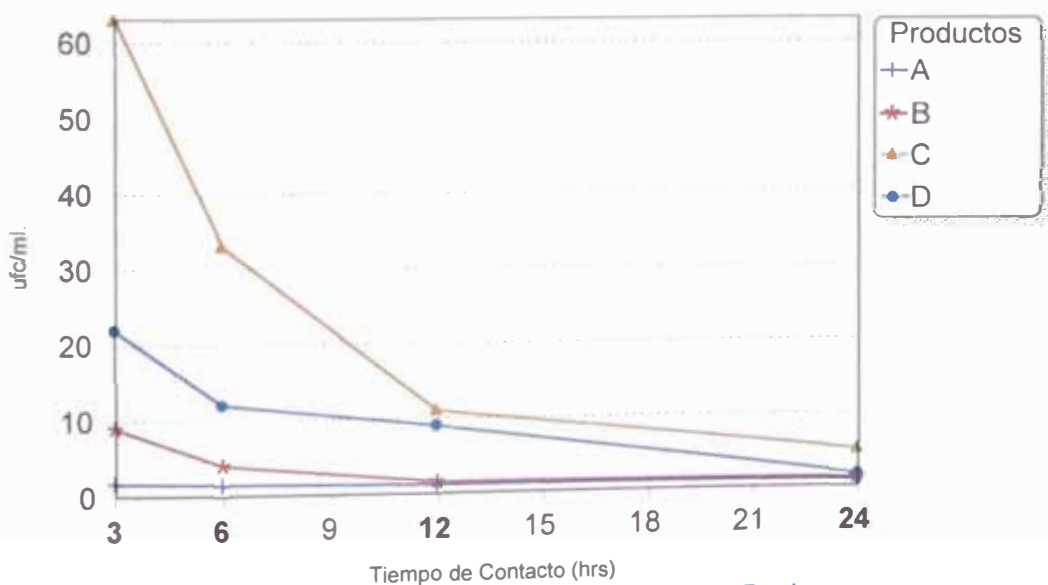


Gráfico 4.1.4 Tiempo Mínimo Letal ( Time Kill Test) - Caso Bacterias Formadora de Slime. Tiempo de Exposición : 24 horas

# Crecimiento Bacterial

Período de Incubación y Crecimiento Bacterial

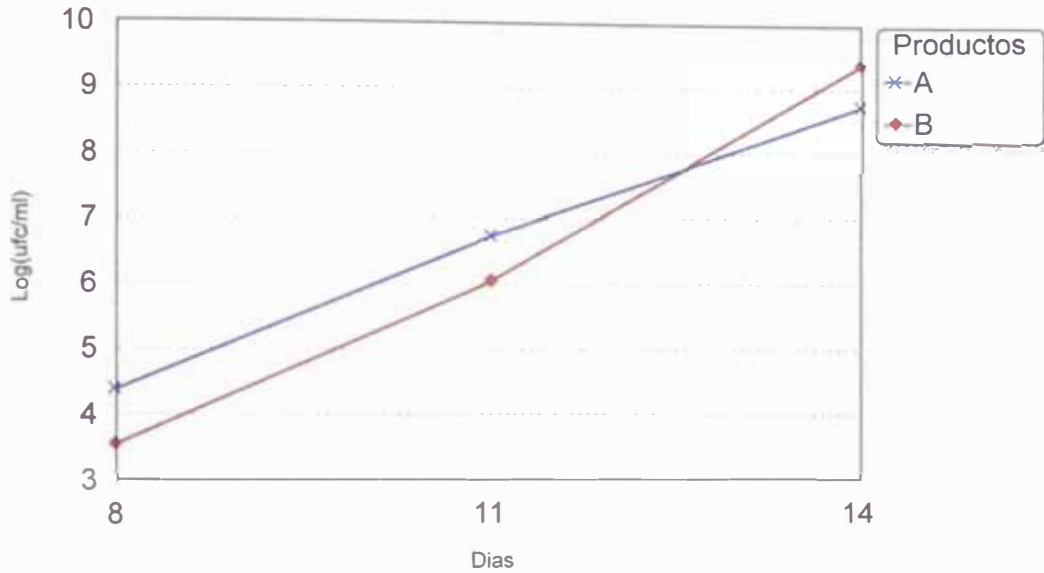


Gráfico 4.1.5 Crecimiento Bacterial

# Consumo de Glucosa

Período de Incubación y Crecimiento Bacterial

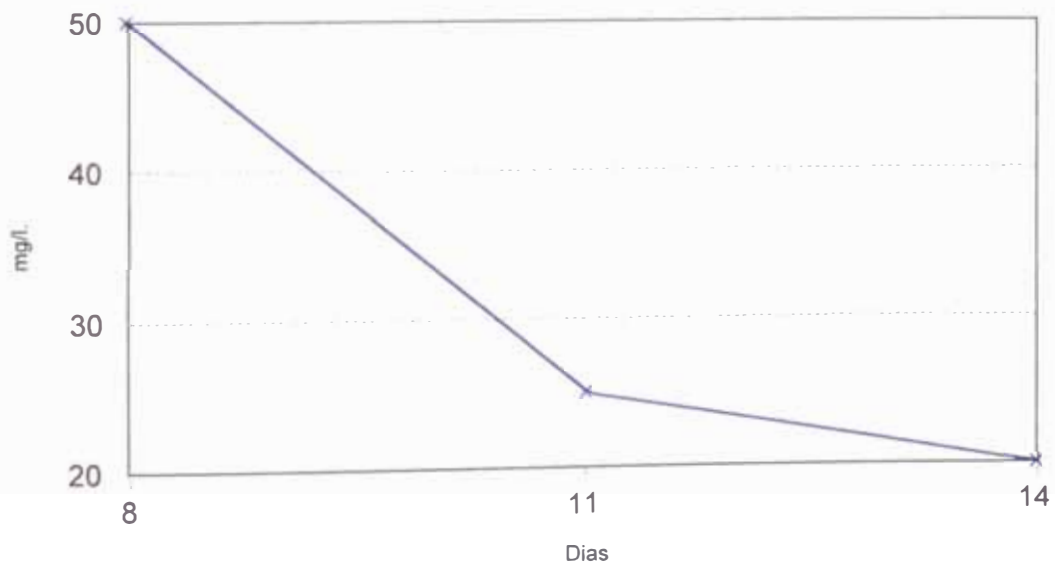


Gráfico 4.1.6 Consumo de Glucosa

## 4.1.2 Disminución de la Población Bacteriana

### 4.1.2.1 Periodo de Incubación y Crecimiento Bacterial

Se muestra a continuación los valores alcanzados en el recuento bacterial y consumo de glucosa.

El muestreo se realiza cada 2 días. Los resultados se muestran en los gráficos : 4.1.5 , 4.1.6

Tabla 4.1.3

<u>Muestra</u>	<u>Crecimiento Bacterial</u>		<u>Consumo Glucosa</u>
	<u>BSR</u>	<u>BFS</u>	<u>(mg/l)</u>
1	$2.4 \times 10^4$	$3.5 \times 10^3$	50
2	$5.4 \times 10^6$	$1.1 \times 10^6$	25
3	$5.4 \times 10^8$	$2.4 \times 10^9$	20

### 4.1.2.2 Corridas Experimentales

El muestreo se realiza cada dos días. En la siguiente tabla se muestra la variación de la población bacteriana y el consumo de glucosa con la aplicación de diferentes concentraciones de biocida y velocidades de flujo. La población bacteriana de BSR y BSF estan expresados en UFC/ml y el consumo de glucosa en mg / l.

Por cada variable se han considerado 24 datos y las evaluaciones se consideran a partir de la tercera semana de trabajo, para el caso de Remoción de Biomasa ( que se muestra mas adelante), el número de datos recogidos es 14, en el caso de Velocidad de Corrosión se recogen 28 datos por cada variable, en este caso las evaluaciones se realizan desde la primera semana de trabajo.

Los resultados se muestran en los gráficos : 4.1.7, 4.1.8, 4.1.9, 4.1.10

## Disminución de la Población Bacteriana

Corridas Experimentales,  $V$  flujo = 3 m/s

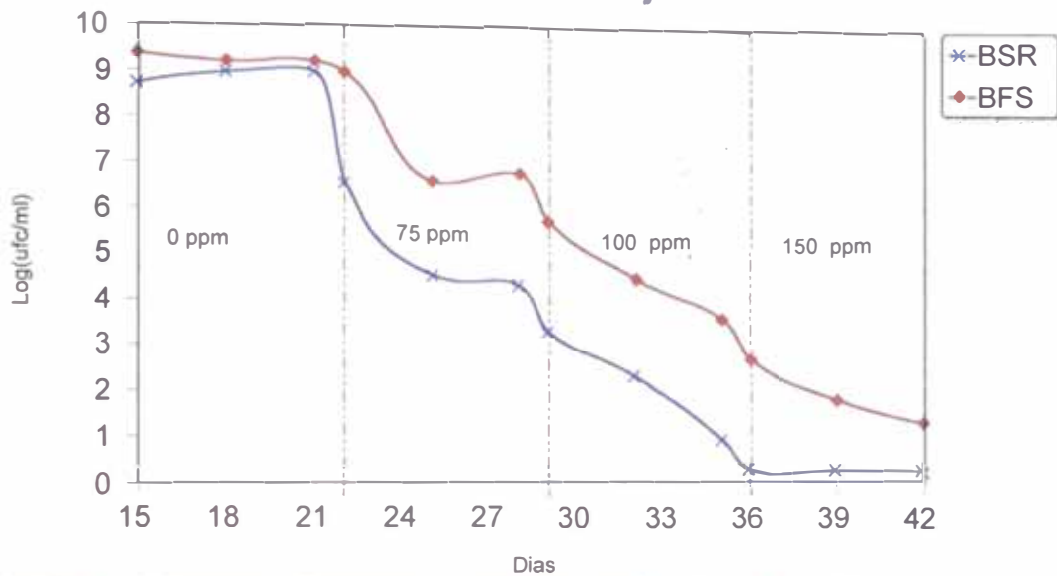


Gráfico 4.1.7 Recuento Bacterial con velocidad de flujo 3 m/s a 0, 75, 100 y 150 ppm de Biocida

## Disminución de la Población Bacteriana

Corridas Experimentales,  $V$  flujo = 1,5 m/s

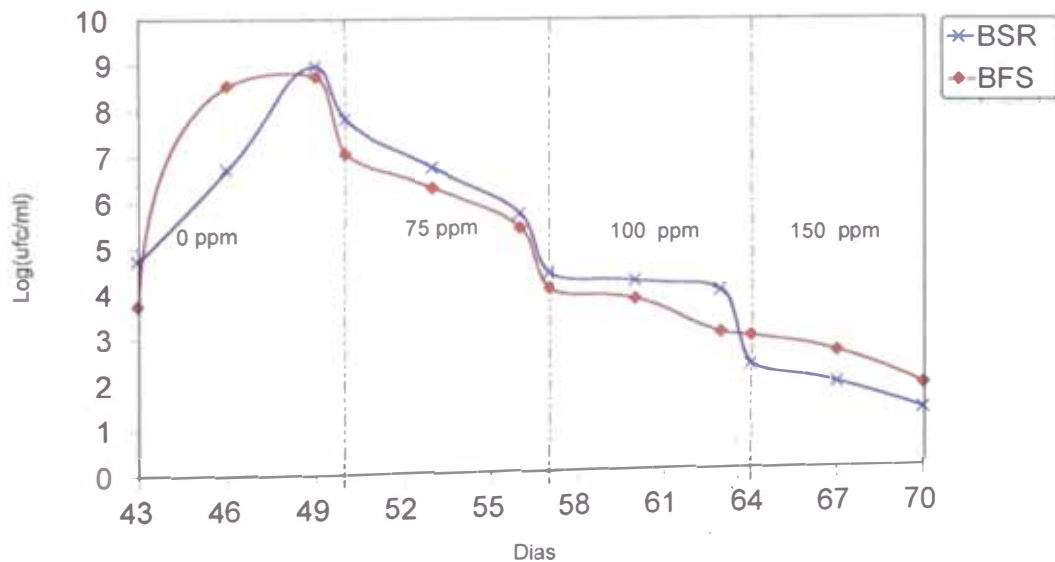


Gráfico 4.1.8 Recuento Bacterial con velocidad de flujo 1,5 m/s a 0, 75, 100 y 150 ppm de Biocida

Tabla 4.1.5

Semana	Flujo (m/s)	Bioc. PPM	# Toma	Peso Bio.	Sólidos S.	$\Delta P$
3 <sup>ra</sup>	3	0	1		21	2
			2		18	4
			3	0.751	18	4
4 <sup>ta</sup>	3	75	1		37	3
			2	0.551	27	3
			3	0.659	26	3
5 <sup>ta</sup>	3	100	1		51	3
			2	0.523	33	2
			3	0.407	34	1
6 <sup>ta</sup>	3	150	1		59	1
			2	0.297	43	0.5
			3	0.113	40	0.5
7 <sup>ma</sup>	1.5	0	1		45	2
			2		40	3
			3	0.596	38	4
8 <sup>va</sup>	1.5	75	1		40	4
			2	0.551	36	3
			3	0.536	35	3
9 <sup>na</sup>	1.5	100	1		51	3
			2	0.421	43	2
			3	0.376	42	2
10 <sup>ma</sup>	1.5	150	1		63	2
			2	0.323	49	2
			3	0.311	50	1

#### 4.1.4 Velocidad de Corrosión

En la tabla se encuentra el reporte de los resultados acompañados de los valores de pH y conductividad obtenidos. La velocidad de corrosión está expresado en mpy, y la conductividad está expresado en  $\mu S/cm$ . Los resultados se muestran en los gráficos : 4.1.15, 4.1.16, 4.1.17, 4.1.18

## 4.1.5 Actividad del Glutaraldehído en función del pH

El pH repercute considerablemente en la actividad del Glutaraldehído esto se pudo comprobar en los resultados obtenidos en las experiencias descritas en la sección.

### 4.1.5.1 Concentración vs. pH

A continuación se muestra la variación de tubos que dieron resultado positivo en crecimiento bacterial a diferentes pH y concentraciones.

**Tabla 4.1.7**

GLUTARALDEHIDO % CONCENTRACION	NIVEL DE pH				
	-	-	-	-	-
0	12*	12*	12*	12*	12*
25	12*	12*	12*	12*	12*
50	12*	2*	2*	12*	12*
		10*	10*		
75	12*	12*	12*	12*	12*
100	12*	12*	12*	12*	12*

+ Indica el número de tubos que muestran crecimiento

- Indica el número de tubos que no muestran crecimiento

### 4.1.5.2 pH vs Tiempo de Exterminio

En esta parte se evalúa la variación del Tiempo de Exterminio considerando diferentes valores de pH. El organismo considerado es la Bacteria *Desulfovibrio Desulfurican*, la concentración de biocida fue de 50 ppm. La concentración bacteriana fue de  $5.4 \times 10^8$  ufc/ml.

Los resultados se muestran en la gráfica 4.1.19

## 4.2 Discusión de Resultados

### 4.2.1 Selección del Biocida

A).- De los resultados obtenidos en las pruebas de concentración mínima letal, se tiene que el producto A ( Glutaraldehído 50%, Amonio Cuaternario 15%) ofrece la menor concentración letal (100 ppm) a comparación de los demás productos.

Esto se explica por :

1. Por el mecanismo de acción del Glutaraldehído, reaccionando rápidamente con los grupos amino primarios que se encuentran en las paredes celulares de los microorganismos.
2. El Amonio Cuaternario, cumple con la característica surfactante, ayudando a solubilizar los lípidos de la célula bacterial. Por atracción de cargas con la membrana del citoplasma celular, forma enlaces con los grupos carboxílicos de las proteínas y enzimas. Sin embargo actuando en forma aislada no ofrece los mismos resultados de la mezcla sinérgica debido a la mayor reactividad del glutaraldehído con respecto al amonio cuaternario.
3. El biocida a base de isotiozolona ofrece una reactividad mas pobre que la del amonio cuaternario, y la razón es que contiene nutrientes esenciales requeridos por la célula para la elaboración de proteínas y esto se verifica en el gráfico 4.1.1.

B).- La prueba del tiempo mínimo letal corroboró los resultados anteriores y verificó la mayor reactividad del Glutaraldehído, pero también que el efecto sinérgico del amonio cuaternario eleva el potencial biocida ( Gráficos 4.1.3 y 4.1.4 )

C).- Las bacterias formadoras de slime (BFS) ofrecen menos resistencia que las sulfato reductoras (BSR). Las masas gelatinosas floculantes , mucoides producidas por las BFS son fácilmente atravesados por los biocidas y atacan a la pared celular directamente. En cambio para que las BSR se vean afectadas se debe vencer los materiales extracelulares, las BFS y de las especies formadoras de esporas, que son células especializadas que se producen en



condiciones inadecuadas de nutrición y ofrecen gran resistencia a la desecación y productos químicos tóxicos.

#### 4.2.2 Disminución de la Población Bacteriana

A).- Durante el Periodo de Incubación y Crecimiento Bacterial se verifica el consumo de nutrientes, al observarse el agotamiento de la glucosa por efecto de la actividad antimicrobiana. Sin embargo el consumo parece disminuir al alcanzarse un valor máximo de crecimiento bacterial, dando indicios de haber alcanzado estabilidad (Gráficos 4.1.5 y 4.1.6 ).

B).- De los resultados obtenidos de las corridas experimentales se verifica el creciente poderío letal del producto A ( Gráfico 4.1.7) , así mismo , se observa que el rate letal es mayor para las BSR que para las BFS, el efecto velocidad contribuye al desprendimiento de las películas biológicas y afecta directamente a las BSR. Por el contrario las BFS quedan flotando en el medio y se revitalizan por la aereación existente en el sistema. Se produce un nivel de espumación alto lo cual es un índice de la eliminación de microorganismos (degradación de los polisacáridos, enzimas, carbohidratos, etc.). Al eliminarse la condición de Anaerobiosis, las BSR quedan descubiertas y sumando la aereación del sistema y la toxicidad de los productos químicos, finalmente son eliminadas.

C).- En el Gráfico 4.1.8 se puede notar un mejoramiento de la resistencia de las BSR y las BFS. Las BSR elevan su tasa de crecimiento del día 43 al 49 sorprendentemente ; esto se debe principalmente :

1. Disminución de la velocidad de flujo (1.5 m/s)
2. Adición de elementos nutrientes. Esto favorece mas a las BFS que las BSR, pues estas últimas metabolizan glucosa con dificultad.
3. Mejoramiento de la formación de la película biológica favoreciendo las condiciones de anaerobiosis.
4. Posibilidad de las bacterias a generar anticuerpos con las que pueden lograr adaptabilidad en ambientes hostiles.

D).- El remanente de glucosa aumenta con el exterminio de las BSR y las BFS y este crecimiento esta en razón al aumento de la concentración del biocida. Pero al cambiar el flujo y la concentración del biocida ( 0 ppm) hacen que de los días 43 a 49 el consumo de glucosa aumente dramáticamente (Gráfico 4.1.10) y esto se debe al repunte del crecimiento bacterial. Así mismo comparativamente con las corridas de flujo 3 m/s, a 1.5 m/s el máximo valor de remanente de glucosa es 42 mg/l que es menor a 48 mg/l (valor alcanzado a 3 m/s), lo que indica indirectamente la existencia mayor actividad bacteriana a menor velocidad de flujo.

### 4.2.3 Remoción de Biomasa

A).- A comparación de las secciones tubulares del sistema, los puntos de recolección (Tapas colectoras) han permitido una mejor evaluación de la biopelícula formada. Así tenemos que a valores de flujo de 3 m/s se han obtenido valores representativos apreciándose una reducción significativa del ensuciamiento biológico. En el día 11 se observa un repunte , producto de la acumulación de material degradado al cambiarse la concentración de 75 a 100 ppm ( Gráfico 4.1.11).

B).- Al variarse la velocidad de flujo a 1.5 m/s se obtuvo una tendencia mas regular. Pero del día 43 a 49 se aprecia un crecimiento de la película biológica consecuente con el crecimiento bacteriano observado anteriormente. Esto sugiere que para el desprendimiento celular, no parece ser necesaria una reacción completa , hasta el punto de exterminar los microorganismos. La fijación parcial en células cercanas a la superficie mas externa de la biopelícula, causan que estas pierdan su adhesión de tal forma que sean más susceptibles a la erosión hidrodinámica. Tan pronto como son barridas de la superficie, esa se torna más irregular.

Por lo tanto la acción de pulido del flujo de agua, mejora la actividad observada por remoción de algunas células que no han sido reticuladas con Glutaraldehído. Este mecanismo es consistente con las observaciones en las que la acción del glutaraldehído es mejorada en áreas de alto rate de flujo.

C).- Los sólidos suspendidos sin embargo han mostrado los bruscos cambios de desprendimiento de películas biológicas, observándose una remoción considerable cada vez que se aplica una concentración de biocida diferente, la razón se explica por :

Los sólidos suspendidos reflejan la contribución de películas inertes, material orgánico, etc. de diferentes sectores del sistema y no de un sector en particular. De ahí su importancia, pues nos indica que el sistema tiende a ser mas estable a valores de 1.5 m/s y que las bondades del producto biocida es mejorada cuando la velocidad es mayor.

D).- La sección de caída de presión determina indirectamente la pérdida de bioensuciamiento, se observa que el ensuciamiento tiende a disminuir más a 3 m/s que 1.5 m/s (Gráfico 4.1.14). De esta manera se comprueba que el desarrollo de la biopelícula esta limitado por el rate de flujo sobre la película, pese a tener un error de 0,5 psi debido a la precisión de 1 psi de los manómetros. En una biopelícula madura, el nivel de biomasa removida es relativamente constante, esta remoción es debido al proceso natural de erosión hidrodinámica y es función del esfuerzo cortante sobre la biopelícula. Así es probable que el esfuerzo cortante pueda alterar la eficacia aparente del Glutaraldehído.

#### **4.2.4 Velocidad de Corrosión**

Las valores obtenidos de velocidad de corrosión por el método gravimétrico son evaluados en conjunto para establecer las tendencias de corrosividad del sistema y su relación con el ataque microbiológico, a velocidades de flujo y concentraciones de biocida diferentes

A).- La corrosión es mayor al inicio y va disminuyendo con respecto al tiempo . El dia #18 se alcanza el mínimo remanente de glucosa ( Gráfico 4.1.9), entre el día 15 y 22 el número de bacterias está en el orden de  $10^9$  ufc/ml para luego ir disminuyendo conforme se aplican las diferentes concentraciones de biocidas (Gráfica 4.1.7) . Entre los días 18 y 21 se tiene la mayor pendiente positiva de la

gráfica de velocidad de corrosión para una velocidad de flujo = 3 m/s (Gráfica 4.1.15). Estos hechos están enteramente relacionados pues el agotamiento de los nutrientes implica un mayor crecimiento bacterial y con ello una mayor actividad metabólica, por lo tanto se tendrá una mayor cantidad de metabolitos corrosivos lo que se traduce en una mayor velocidad de corrosión. Lo anterior también explica porque la mayor velocidad de corrosión se alcanza cuando la concentración de biocida es 0 ppm, pues las bacterias se desarrollarán agotando los nutrientes y expulsando los metabolitos corrosivos.

B.-Cuando la velocidad de flujo es de 1.5 m/s , se observa que el crecimiento bacterial logra niveles de  $10^8$  ufc/ml el día 49 ( 0 ppm de Biocida), esta demora se debe a la drástica disminución de la población bacterial. Luego de aplicar la primera dosis de biocida (día 50), la población bacterial no decae tan bruscamente debido a la acumulación de materia orgánica muerta, logrando mantener un nivel elevado de BSR , pero las BFS al parecer se ven inicialmente algo afectadas por esta misma materia, pues no permiten que las bacterias crezcan por aerobiosis al cubrirlas.

Conforme se aplican las demás dosis de biocida, el nivel bacterial disminuye, pero no en la medida de las corridas con 3 m/s, pues el esfuerzo cortante no es el mismo ( Gráfica 4.1.16). Sin embargo pese a existir un mayor remanente de bacterias, la velocidad de corrosión no aumenta, y la razón fundamental es que las colonias de BSR se han localizado y concentrado en zonas donde el biocida no logra afectarlo de inmediato y en forma severa, debido a que las biopelículas son más consistentes y a la existencia de una menor velocidad de flujo, por lo tanto, el efecto letal se conseguirá con mayor tiempo de aplicación.

C).-Al examinar los cupones se puede diferenciar que la corrosión se inicia sobre cierta área superficial, y con el tiempo se localiza en áreas donde las bacterias se agrupan. Al disminuir la velocidad de corrosión general aumenta la corrosión localizada, el desgaste no es uniforme y aparecen picaduras. La velocidad de flujo también influye, pues se puede notar que la velocidad de corrosión disminuye más rápidamente a 3 m/s que a 1.5 m/s (Gráficos 4.1.15 y 4.1.16).

D).- El pH y la conductividad se alteran por el carácter ácido del glutaraldehído, así como por los productos de corrosión, el ácido sulfhídrico, etc. (Gráficos 4.1.17 y 4.1.18).

E).- El  $Fe^{2+}$  también contribuye a aumentar la conductividad al elevar el STD. Los cupones de corrosión muestran pequeños puntos oscuros y con pequeñísimas picaduras, este fenómeno es más apreciable en los cupones de los días 64, 67 y 70, por el contrario de los cuatro cupones extraídos los días 39 y 42, dos de ellos no muestran colonias localizadas.

F).- El aumento de la concentración del biocida logra alterar la velocidad de corrosión disminuyéndola, y esto es más apreciable cuando la velocidad de flujo es 3 m/s. Los cambios de velocidad de corrosión son mas suavizados a 1.5 m/s. Sin embargo en ambos casos la diferencia entre la mayor velocidad de corrosión alcanzada y la menor no es considerable, lo que sugiere que el fenómeno corrosivo no se puede atribuir 100 % a la actividad biológica, y por lo tanto la contribución de fenómenos electroquímicos del medio con la superficie metálica es considerable.

G).- De los datos de pérdida de bioensuciamiento, recuento bacterial y velocidad de corrosión, se obtienen valores de eficacia del Biocida (Glutaraldehído 50 %, Amonio Cuaternario 15%).

**Tabla 4.2.1**

Biocida CONCENT.	Eficacia del Biocida							
	CORROSIÓN		BIOMASA		Recuento BSR		Recuento BFS	
	1.5 m/s	3 m/s	1.5 m/s	3 m/s	1.5 m/s	3 m/s	1.5 m/s	3 m/s
75 ppm	6.78	5.16	10.07	12.25	99.95	99.99	99.95	99.63
100 ppm	18.87	19.39	29.85	38.23	98.10	99.95	99.54	99.93
150 ppm	9.97	13.49	17.28	72.23	99.78	88.88	92.81	94.76

(Ver Anexo 7, Eficacia Biocida del Glutaraldehído)

Estos resultados nos indican una marcada capacidad del Glutaraldehído con Amonio Cuaternario para actuar como biocida en sistemas de enfriamiento. De la tabla 4.2.1, para una concentración de 75 ppm la eficacia del biocida para eliminar bacterias BSR a 3 m/s resulta ser 99.63 %, el cual es un porcentaje alto, para luego disminuir esta eficacia para concentraciones de 100 y 150 ppm en un 0.04 % y 11.11 % respectivamente. Sin embargo esta disminución no debe interpretarse como un acostumbamiento del microorganismo al biocida o a una merma en su poder letal. El valor obtenido es consecuente con la característica bioestática del biocida, vale decir que elimina bacterias hasta llegar un nivel de control que no es perjudicial para el sistema; esta tendencia se puede corroborar también en la remoción de biomasa y en la velocidad de corrosión, indicando que el rate letal se estabiliza cuando se alcanzan valores mínimos no perjudiciales. Para determinar la concentración óptima se requiere determinar el rate de exterminio bacterial máximo o la obtención del costo mínimo ( Costo de aplicación del programa biocida más el costo de pérdida de energía y pérdidas de corrosión )

#### 4.2.5 Actividad del Glutaraldehído en función del pH

A).- De la tabla 4.1.7, el Glutaraldehído exhibe una actividad antimicrobiana superior con el incremento del pH. La concentración letal es observada desde los 50 ppm, sin embargo a pH=5 la actividad del glutaraldehído es nula.

B).- El efecto del pH sobre el Tiempo letal de la BSR se muestra en el gráfico 4.1.19. La velocidad de exterminio bajo condiciones básicas es mayor. Tanto los resultados de la tabla 4.1.7 como los mostrados en el gráfico 4.1.19 , no deben sugerir que el pH ejerce influencia sobre la actividad antimicrobiana del glutaraldehído. Esto se explica a que los grupos aminos encontrados en la superficie celular de las bacterias son influenciadas por el clásico criterio ácido base. El pK (  $\log\{1/K\}$ , donde K es la constante de equilibrio) de las aminos esta comúnmente alrededor de 9 . Esto es a pH = 9 , cerca del 50% de las funciones amino son protonadas y el resto no. Estas aminos libres o no protonadas sirve como lugares de reacción para el ataque del glutaraldehído.

Por lo tanto cuando el pH incrementa de ácido a base, se formarán mas sitios reactivos para el ataque del glutaraldehído y la acción letal con las células ocurrirá más rápido. A cualquier pH, existirá una distribución de radicales amino libres y protonados en las superficies celulares. Bajo estas condiciones , el glutaraldehído formará rápidamente enlazamientos cruzados complejos sobre la superficie celular, esta acción es similar a la aplicación de una goma molecular a la pared celular, el resultado es que el microorganismo ya no puede desarrollar una gran variedad de funciones celulares esenciales.

# CAPITULO V

## 5.1 Evaluación Económica

Se mostrará a continuación como se determina el costo de un programa de tratamiento biocida en una torre de enfriamiento.

### 5.1.1 Cálculos Previos

Se considerará una torre de enfriamiento con las siguientes características:

pH	6.5 - 9.0
Temperatura	78 - 90 °F
Rate Purga	30 gal / hr
Rate Reposición	78 gal / hr
Tiempo de Ciclo	: 37 minutos

Para los cálculos se utilizarán las relaciones establecidas en la **sección 1.7.3.1 Definiciones**. En este caso determinamos la capacidad del sistema, la cual normalmente es dato disponible en planta.

#### A).- Ciclos de Concentración

$$FC = 78 / 30$$

$$FC = 2.6$$

#### B).- Determinación del Rate de Evaporación

$$E = 78 (2.6 - 1) / 2.6$$

$$E = 48 \text{ gal / hr}$$

#### C).- Cálculo de la Tasa de Recirculación

$$Q_c = 694.44 \cdot 48 / 6.67$$

$$Q_c = 4997.47 \text{ gal / hr} = 18.915 \text{ m}^3 / \text{hr}$$

#### D).- Capacidad del Sistema

$$V = 18.915 \cdot (37/60) = 11.66 \text{ m}^3$$



**E).- Índice de Tiempo de Retención**

$$ITR = \text{Ln } 2. ( 11.66 / (30 \cdot 3.785 \times 10^{-3} ) )$$

$$ITR = 71.16 \text{ horas}$$

**F).- Consideraciones de uso del Producto**

De la Hoja del Fabricante se recomienda aplicar una dosis de 70 a 100 ppm cuando el sistema esta severamente ensuciado biológicamente, y luego aplicar dosis de 40 a 70 ppm cuando el control microbiano es evidente. Para una aplicación continua del producto estas dosificaciones varían, comenzando con 80 a 40 ppm y luego disminuyéndola de 40 a 10 ppm. La frecuencia de adición dependerá de las condiciones del sistema, y el régimen de tratamiento debe ser ajustado de acuerdo a la respuesta de cada sistema en particular.

Por especificación del fabricante se tiene que para preparar una dosificación de 50 ppm de ingrediente activo se tiene que agregar 0.09 lts de producto por metro cúbico de capacidad del sistema.

**G).- Tratamiento a aplicar**

Consideraremos la torre con un grado de ensuciamiento elevado. Se aplicará un tratamiento inicial y luego otro una vez alcanzada la limpieza del sistema manteniendo un régimen constante. Se presenta a continuación dos alternativas:

**G.1 Dosificación Intermitente (Batch)****Tratamiento Inicial (100 ppm de Ingrediente Activo):**

El valor obtenido de ITR, nos asegura que luego de 71 horas habrá un remanente de producto de concentración media (respecto a la inicial), lo que permite proponer aplicaciones semanales sin que hubiera merma en la actividad del producto.

Dosis : 0.180 lts / m<sup>3</sup>

Consumo por aplicación : 2.1 lts

Meses de Aplicación : 1 ; Frecuencia Semanal : 4 veces por semana

Consumo Total : 33.6 lts

**Tratamiento Sistema Controlado : (70 ppm de Ingrediente Activo)**Dosis : 0.126 / m<sup>3</sup>

Consumo por aplicación : 1.47 lts

Frecuencia Mensual: 4 veces por mes

Meses de aplicación : 11 <sup>(1)</sup>

Consumo Mensual : 5.88 lts ; Consumo Anual : 64.68 lts

**G.2 Dosificación Continua****Tratamiento Inicial (50 ppm de Ingrediente Activo):**Dosis : 0.09 lts / m<sup>3</sup>

Consumo por aplicación : 1.05 lts

Semanas de Aplicación : 2 (10 días)

Consumo Total : 10.5 lts

**Tratamiento Sistema Controlado : (10 ppm de Ingrediente Activo)**Dosis : 0.018 / m<sup>3</sup>

Consumo por aplicación : 0.21 lts

Frecuencia Mensual: 20 días ; Meses de aplicación : 11 <sup>(1)</sup>

Consumo Mensual : 4.2 lts

Consumo Anual : 46.2 lts

<sup>(1)</sup> Considerando el primer año de aplicación, luego del cual esta dosis se mantiene mensualmente.

**5.1.2 Evaluación de Alternativas****A).- Consideraciones**

Costo Biocida / lt	:	US\$ 10
Tasa de Descuento	:	15 % anual
Tasa Impositiva		30%
Mantenimiento		10% Capital Fijo
Horas - Hombre		US\$ 4
Años operación		10
Depreciación Lineal		

## B).- Costos de Empleo de los Biocidas

### B.1 .- Sistema Batch

- Costo Sistema Dosificación	:	US\$ 400
- Costo Instalación	:	US\$ 100
- Costo Consumo de Biocida	:	US\$ 982.8 / año <sup>(2)</sup>
- Costo Mantenimiento	:	US\$ 50 / año
- Costo Personal Operativo	:	US\$ 192 / año
<b>Costo Total</b>	:	<b>US\$ 1724.8</b>

<sup>(2)</sup> Costo del primer año, los siguientes años sería US\$ 705.6

### B.2.- Sistema Continuo

- Costo Sistema Dosificación	:	US\$ 1100 (incluyendo Bomba)
- Costo Instalación	:	US\$ 150
- Costo Consumo de Biocida	:	US\$ 567 / año <sup>(3)</sup>
- Costo Mantenimiento	:	US\$ 125 / año
- Costo Personal Operativo	:	US\$ 48 / año
<b>Costo Total</b>	:	<b>US\$ 1990</b>

<sup>(3)</sup> Costo del primer año, los siguientes sería años US\$ 504

## C.- Evaluación de Costos

Analizaremos desde el punto de vista de egresos, puesto que no se generan ganancias sino ahorros o disminución de costos. Así tenemos

$$FEG_i = EG_i \cdot (1-t) - t \cdot D_i - Vs_i + INV_i$$

FEG<sub>i</sub> : Flujo de egresos

EG<sub>i</sub> : Egresos

D<sub>i</sub> : Depreciación

Vs<sub>i</sub> : Valor de Rescate (En este caso no se considera)

INV<sub>i</sub> = Inversión

t : Tasa Impositiva

i : Año " i "

### C.1.- Alternativa Sistema Batch

Año	INV	EG	D	FEG	VFEG <sub>i</sub>	VFEGACUM
0	500			500	500	500
1		1224,8	50	842.36	732.49	1232.49
2		947.6	50	648.32	490.22	1722.71
3		947.6	50	648.32	426.28	2148.99
4		947.6	50	648.32	370.68	2519.67
5		947.6	50	648.32	322.33	<b>2842</b>
6		947.6	50	648.32	280.29	3122.29
7		947.6	50	648.32	243.73	3366.01
8		947.6	50	648.32	211.94	3577.95
9		947.6	50	648.32	184.49	3762.24
10		947.6	50	648.32	160.25	<b>3922.50</b>

$$VFEG_{0,15\%} = 3922.5$$

### C.2.- Alternativa Sistema Continuo

Año	INV	EG	DEP	FEG	VFEG <sub>i</sub>	VFEGACUM
0	1250			1250	1250	1250
1		740	125	480.5	417.83	1667.83
2		677	125	436.4	329.98	1997.81
3		677	125	436.4	286.94	2284.75
4		677	125	436.4	249.51	2534.26
5		677	125	436.4	216.97	<b>2751.23</b>
6		677	125	436.4	188.67	2939.90
7		677	125	436.4	164.06	3103.95
8		677	125	436.4	142.66	3246.61
9		677	125	436.4	124.05	3370.67
10		677	125	436.4	107.87	<b>3478.54</b>

$$VFEG_{0,15\%} = 3478.54$$

Por lo tanto es conveniente implementar un programa de dosificación continua ya que significa un menor egreso de dinero con respecto a la dosificación batch. En el 5<sup>o</sup> año se recupera lo invertido y comienza un periodo de ahorro creciente. Lo cual verifica la rentabilidad del sistema continuo

# CAPITULO VI

## 6.1 Conclusiones

1. - El producto a base Glutaraldehído y Amonio Cuaternario ha demostrado tener un buen comportamiento como biocida en sistemas de agua de enfriamiento a diferentes concentraciones y en flujos variables.
2. - El Glutaraldehído no mostró dificultad para combatir las BSR teniendo en cuenta que la efectividad de muchos biocidas es alterada por el efecto inhibitorio de sulfuro. Asimismo las BFS son mas susceptibles al ataque biocida por la cantidad de grupos amino que hay en sus paredes por el material extracelular que producen. El Amonio Cuaternario muestra mayor efectividad sobre las BFS y la Isotiozolona no muestra buena performance.
3. - Durante el Periodo de Incubación y Crecimiento Bacterial se comprobó que el desarrollo de un película biológica depende de la velocidad de flujo sobre la misma y en consecuencia del esfuerzo cortante. Un incremento en la velocidad de flujo disminuye el espesor de la capa límite a través del cual la difusión tiene lugar, y por efecto de la turbulencia, la difusión incrementa sustancialmente el transporte de masa a la superficie sustrato (superficie mas externa de la biopelícula). Así, son transportados : células , partículas abióticas, nutrientes potenciales y productos metabólicos . Bajo estas condiciones debería ser favorecida las condiciones de desarrollo y adhesión de la biopelícula. Sin embargo a altas velocidades se incrementa también las fuerzas de corte cerca de la superficie la cual puede reducir la eficiencia global de los procesos de sujeción microbiana, removiendo la biomasa adherida.
4. - La efectividad del Glutaraldehído en la remoción de biopelículas ha quedado demostrada, y depende la concentración del producto y el esfuerzo cortante. La acción de pulido del flujo del agua, mejora la actividad por remoción de partículas o células que no han sido afectadas por el Glutaraldehído . Asimismo

a mayor flujo , no se requeriría de una concentración elevada de producto para lograr la limpieza del sistema, optimizandose su aplicación. Por el contrario en áreas de bajo flujo se requiere de una mayor concentración toda vez que el flujo no ha trascendido en su acción pulidora producto de la erosión hidrodinámica. Pese a que el volumen de las tapas colectoras es pequeño, se puede afirmar que la pérdida de biopelícula en las tapas es menor que en el resto de la superficie tubular del circuito, pues la acción de erosión es menor, sin embargo fue suficiente para encontrar la relación entre la concentración del producto, esfuerzo cortante y pérdida de biomasa.

5. - La aplicación de Glutaraldehído , afecta la velocidad de corrosión en sistemas de gran actividad microbiológica. La acción letal sobre las BSR, disminuye la presencia de metabolitos corrosivos y la acción de estos en la interfase líquido metal. Sin embargo es claro que el fenómeno corrosivo no se puede atribuir totalmente a la actividad microbiana , pues pese a lograr un nivel mínimo de presencia bacterial era evidente la contribución de otro tipo de fenómenos electroquímicos entre el medio circundante y la superficie metálica de los cupones.
6. - Se comprueba que la rapidez de acción del Glutaraldehído está influenciado por el pH. Probablemente debido a la disminución de la protonación de los grupos amino de las paredes de las células bacteriales. Esto se pudo observar en experiencias de corto tiempo de contacto, mientras que en las corridas experimentales el efecto pH es menos notorio.
7. - En la evaluación económica, se puede ver que la alternativa de inversión "Sistema de Dosificación Continuo" , calculada a 10 años (sin valor de rescate), produce como resultado  $VFEG_{(0,15\%)} = 3478.54$  del año 0, la cual es inferior a  $VFEG_{(0,15\%)} = 3922.5$  que corresponde al sistema batch. Por lo que la aplicación continua de biocida vía bomba dosificadora, es mas rentable y se recomendaria ejecutarla

## 6.2 Recomendaciones

1. - Realizar pruebas de corrosión aplicando técnicas electroquímicas para determinar : potencial redox, curva potencioestática, potencial de picadura. Estos ensayos deben realizarse en celdas especialmente acondicionadas para favorecer la anaerobiosis, permitiendo un hábitat favorable para el desarrollo de cultivos puros de bacterias sulfato reductoras; de esta forma se investigará el aporte de la actividad microbiológica en el ataque de las superficies metálicas.
2. - Evaluar el poder letal del Glutaraldehido en medios de cultivo que no contengan grupos amino , de lo contrario se registrará una falsa performance del producto.
3. - Existen modelos matemáticos que describen la formación de películas de bioensuciamiento, siendo indispensable un estudio que permita verificar en la practica el fenómeno, vale decir , el equilibrio de materia entre el sustrato, la biomasa en suspensión, y la acumulación de la biopelícula. La participación enzimática en estos procesos es de suma importancia, y la comprensión del crecimiento bacterial es clave para poder lograr un control del mismo.
4. - El sistema de recirculación construido permite la conexión de equipos de calentamiento, sensores de temperatura, lo que permitiría evaluar a las bacterias en otras temperaturas. Así como cuantificar la pérdida de energía por la reducción de la transferencia de calor a causa de la formación de una película biológica
5. - Se recomienda la evaluación de biocidas en sistemas que simulen las condiciones de planta. Normalmente los estudios de laboratorio de los biocidas no reflejan las interacciones de contaminantes inorgánicos, orgánicos, flujo, temperatura y pH .
6. - Los estudios referentes a las bacterias flotantes (planktonic) no tienen ninguna aplicación para el estudio del efecto microbiocida en problemas de ensuciamiento microbiológico. Por lo tanto se debe profundizar la investigación

de las bacterias que se encuentran en las paredes de los tubos o ductos pues son las que están más relacionadas con el fenómeno, de allí que más valor tendrán las muestras extraídas de las biopelículas que del agua del circuito.

7. - Existen técnicas de recuento bacterial más avanzadas, que pueden obtener resultados inmediatos, sin embargo, con la técnica aplicada permitió la práctica de uno de los métodos más tradicionales de conteo obteniéndose un resultado de precisión aceptable con el inconveniente del tiempo de reporte. Una de las técnicas más recomendables para recuento de las BSR es el método ARA, mientras que para las BFS se pueden usar paletas con cultivo y obtener el resultado por medio de cartillas.
8. - Para plantear un programa de tratamiento biocida no basta obtener los parámetros de operación del sistema, se requiere realizar un examen organoléptico y muestrear biopelículas para determinar mediante análisis microbiológico el grado de contaminación del sistema. Para optimizar el tratamiento se requiere monitorear cada cierto tiempo el contenido bacterial y de esta forma ajustar las dosificaciones que permitan garantizar el control microbiano de la torre. Un control óptimo no sólo está relacionado con un nivel bajo de bacterias, si no también con el costo mínimo del programa y la disminución de los costos de mantenimiento de la torre.
9. - Para el muestreo biológico se recomienda trabajar con guantes quirúrgicos, mascarilla y botellas esterilizadas. La seguridad personal y evitar la contaminación de la muestra es de vital importancia, ya que la carga bacteriana es elevada y contiene bacterias como las *Pseudomonas*, las que podrían causar algún malestar si no se toman las medidas pertinentes, asimismo las muestras pueden contaminarse fácilmente por cualquier factor externo y de esta manera obtener resultados falsos.
- 10.- Todo producto químico biocida si no es manipulado de acuerdo al cartilla del fabricante, puede resultar nocivo a la salud. De igual forma los desechos industriales, como las purgas de las torres de enfriamiento deben ser tratadas para reducir los riesgos de contaminación de mares y ríos. Se incluye en el **Anexo 8C** la cartilla de seguridad del producto.



## Bibliografía

- 1.- American Petroleum Institute. Biological Analysis of Subsurface Injection Waters (API recommend practice for - API RP 38). 2 nd Ed. Dallas, Texas, USA. Diciembre 1965.
- 2.- Boehler Robert A. Role of Microorganisms in Industrial Corrosion. NALCO CO. Publication. Heating, Piping & Air Conditioning. Diciembre 1969.
- 3.- Brown C.M . Physiology & Ecology of Sulfate Reducing Bacteria. Heriot-Watt University Press. 1980
- 4.- Brown William H. La Corrosión por Bacterias Sulfato Reductoras en el Oleoducto Nor-Peruano, Seminario sobre Procesos de Corrosión en Instalaciones de Perforación y Producción de Petroleo. Lima - Perú. Setiembre 1985.
- 5.- Costello J.A. Int. Biodeterioration Bull. Vol. 5. No 3. 1969. p. 101
- 6.- Costerton J.W , Lashen E.S. The inherent biocide resistance of corrosion-causing biofilm bacteria . NACE Annual Conference 83. Paper No 246. Anaheim, California USA. 1983
- 7.- Chantereau J. Corrosion Bacteriana. Ed. Limusa. Mexico. 1985. págs. 13-96, 121-136
- 8.- Characklis W.G. Fouling Biofilm Development: A process analysis, Biotechnology & Bioengineering. Vol 23. 1981. p. 1923
- 9.- Davis J.B. Petroleum Microbiology. Elsevier Ed. London United Kingdom. 1967. p.403
- 10.- De Mele M.F.L, Viera M.R, Guiamet P.S, Videla H.A. The effect of Ozone on mixed bacterial biofilms & steel corrosion behavior. A laboratory study. Primer Congreso de Corrosion NACE - Región Latinoamericana. Artículo No 94093. Maracaibo. Venezuela. Noviembre 1994

- 11.- Dexter S.C., Duquette D.J., Siebert O.W, Videla H.A. Use & Limitations of Electrochemical Techniques for Investigating Microbiological Corrosion. Corrosion NACE. Vol 47. No 4 . Abril 1991. págs. 308-318.
- 12.- Eagar R.G. Jr. , Thels A.B. Control of Microbiological Fouling with Glutaraldehyde. Union Carbide Corporation Publication. Bound Brook, New Jersey. USA. Febrero 1987.
- 13.- Geesey G.G, Lewandowsky Z., Flemming H.C. Biofouling & Biocorrosion in Industrial Water Systems. Lewis Publishers. Berlin Alemania. 1994. p. 227.
- 14.- Grab L.A, Thels A.B. Comparative Biocidal Efficacy vs. Sulfate Reducing Bacteria. Nace Annual Conference 92. Houston, Texas, USA. 1992
- 15.- Hilliard. Microorganisms in Oilfield. Petrolite Publication. Houston, Texas USA. 1985
- 16.- Iverson Warren P. Anaerobic Corrosion of Mild Steel by Sulfate Reducing Bacteria. NACE Annual Conference 69. Paper No 48. Houston, Texas. USA. 1969.
- 17.- Iverson Warren P. Mechanism of Anaerobic Corrosion of Steel by Sulfate Reducing Bacteria. NACE Annual Conference 83. Paper No 243. Anaheim, California. USA. Abril - 1983.
- 18.- Iverson W.P. Microbial Iron Metabolism. J.B Neilands Ed. Academic Press. London & New York. 1974. p. 475
- 19.- Maxwell S. Effect of Cathodic Protection on The Activity of Microbial Biofilms. NACE Annual Conference 86. Noviembre 1986. págs 53 - 56.
- 20.- Miller J.D.A. Microbial Biodeterioration. A.H.Rose Ed. Academic Press. London & New York. 1981. p. 149
- 21.- Miller J.D.A, King R.A. Microbial Aspects of Deterioration of Materials. R.J. Gilbert & D.W. Lovelock Eds. Academic Press. London & New York. 1975. p. 83.

- 22.- Noriega P. Ruddy . Digestión Anaerobia - Efectos de los Sulfatos, Sulfitos y Sulfuros en la Metanogenesis. Seminario Internacional Tratamiento de Aguas Residuales y su Impacto Ambiental. Lima - Perú. Abril 1993.
- 23.- Olsen E., Szybalski W. Aerobic Microbiological Corrosion of Water Pipes. Vol I. Acta Chem. Scand. 1949
- 24.- Pope D.H, Soracco R.J. Methods of Detecting, Enumerating & Determinating viability of microorganisms involved in biologically induced corrosion. NACE Annual Conference 82. Paper No 82. USA . 1982
- 25.- Postgate, J.R. The Sulfate Reducing Bacteria. Cambridge University. Cambridge. 1979
- 26.- Ringas C., Robinson F.P.A. Corrosion of Stainless Steel by Sulfate Reducing Bacteria - Electrochemical Techniques. Corrosion NACE. Junio 1987. págs 386 - 396
- 27.- Roberts G.A.H & Riegelhuth. Patent Especification 1 571 901. Reducing Corrosion in Storage Tanks. EXXON Research & Engineering Company. 1980. págs. 1-3.
- 28.- Peabody A.W. Control of Pipeline Corrosion. NACE Annual Conference 76. USA. 1976. págs. 173 -176.
- 29.- Savinelli E.A, Freedman A.J, Larong T,M, " Fifty years of Cooling Water Treatment - A review and commentary. International Water Conference. Pittsburg, Pennsylvania. USA. Octubre 1989. págs 1 - 10
- 30.- Shreir. Corrosion 1 Metal/ Environment. Newnes Ed. 2nd Ed. Boston United Kingdom. 1965. págs. 2:73 - 81, 10: 1 - 9.
- 31.- Tatnall R.E, Stanton K.M. & Ebersole R.C. Testing for the Presence of Sulfate Reducing Bacteria. Materials Performance. USA. Agosto 1988. págs. 71 - 80

- 32.- Ticona Jorge. Protección de las Instalaciones Industriales de Selva con Tratamiento Bactericida del Crudo y Colocación de Anodos de Sacrificio.Seminario sobre Procesos de Corrosión en Instalaciones de Perforación y Producción de Petroleo. Lima - Perú. Setiembre 1985.
- 33.- Videla Hector A. Biocorrosion in the Industry. A 1994 Perspective . Primer Congreso de Corrosion NACE - Región Latinoamericana. Artículo No 94095. Maracaibo. Venezuela. Noviembre 1994
- 34.- Videla Hector A., Salvarezza R.C. Introducción a la Corrosión Microbiológica. Librería Agropecuaria. 1ra Ed. Buenos Aires. Argentina. 1984
- 35.- Von Wolzogen Kühr, Van der Vlugt L.W. Water. Vol 18. 1934 . p. 147