

Determinación de la Corrosión Inducida Microbiológicamente en Sistemas de Enfriamiento del Cojinete Guía de la Turbina de una Central Hidroeléctrica en el bajo Caroní a través de la Microscopia Electrónica de Barrido

L.M. Linares ^{a*}, J. Morillo ^b.

^a Departamento de Estudios y Pruebas de Corpoelec, Puerto Ordaz, Venezuela.

^b Centro de Estudios de Corrosión y Biomateriales de la Unexpo, Puerto Ordaz, Venezuela.

*Autor de Correspondencia: E-mail: lizeth_linares@yahoo.com, Tlf: +54 299-5900450.

RESUMEN

Los sistemas de enfriamientos en las centrales hidroeléctricas del bajo Caroní han sufrido desde su instalación problemas de ensuciamiento, rotura de sus tubos y un posible crecimiento bacteriano. Debido a esto, se realizó una investigación utilizando cupones de cobre JISH3300 y de acero AISI1013, expuesto cuatro (4) meses a la salida de los sistemas de enfriamiento del cojinete guía de la turbina de una de las Centrales Hidroeléctrica, a fin de determinar la corrosión inducida microbiológicamente, a través de la observación bajo la Microscopia Electrónica de Barrido (MEB) y del análisis elemental de los productos de corrosión por Espectroscopía de Energía Dispersiva (EDS). Los resultados confirmaron la presencia de bacterias reductoras de hierro sobre el acero y productoras de ácidos que atacan también al cobre, indicada en la tinción positiva en medios de cultivos. La MEB/EDS permitió visualizar e identificar en los cupones de acero AISI 1013 y cobre JIS H3300 el crecimiento de la biopelícula o sustancia polimérica extracelular (EPS), donde se desarrolla el crecimiento bacteriano debido a que estas poseen los nutrientes esenciales para el desarrollo de las bacterias. A medida que se va desarrollando la biopelícula, el exopolímero va cambiando de pH, produciéndose la acidificación del medio, dando paso al crecimiento de las bacterias productoras de ácidos, siendo este mecanismo mucho más evidente en el cobre; los cuales generan en ellos múltiples picaduras, indicando que ambos materiales son totalmente vulnerables en este medio a los procesos de corrosión inducidos microbiológicamente.

Palabras clave: Bacterias, medios de cultivos, biopelícula, corrosión, sistemas de enfriamientos.

Determination of Microbiologically Induced Corrosion in Cooling Systems of the Guide Bearing of the Turbine of a Hydroelectric Power Plant in el Bajo Caroni through Scanning Electron Microscopy

ABSTRACT

Since their installation, the cooling systems in the hydroelectric plants of the lower Caroni have suffered from fouling problems, broken pipes, and possible bacterial growth. Due to this, an investigation was carried out using JISH3300 copper coupons and AISI 1013 steel coupons, exposed four (4) months at the outlet of the cooling systems of the turbine guide bearing of one of the Hydroelectric Power Plants, to determine the Microbiologically induced corrosion through observation under Scanning Electron Microscopy (SEM) and elemental analysis of corrosion products by Energy Dispersive Spectroscopy (EDS). The results confirmed the presence of iron-reducing bacteria on steel and acid-producing bacteria that also attack copper, indicated by positive staining in culture media. The MEB / EDS allowed to visualize and identify in the AISI 1013 steel and JIS H3300 copper coupons the growth of the biofilm or extracellular polymeric substance (EPS), where bacterial growth develops because they have the essential nutrients for the development of the bacteria. As the biofilm develops, the exopolymer changes its pH, causing the acidification of the medium, giving way to the growth of acid-producing bacteria, this mechanism being more evident in copper; which generate multiple pitting in them, indicating that both materials are vulnerable in this environment to microbiologically induced corrosion processes.

Keywords: Bacteria, culture media, biofilm, corrosion, cooling systems.

INTRODUCCIÓN

Las centrales hidroeléctricas del bajo Caroní constan de una serie de equipos y componentes necesarios para la producción de la energía eléctrica, los cuales liberan gran

cantidad de calor en su proceso de generación, teniéndose que emplear diferentes sistemas de enfriamientos. Uno de estos componentes; el cojinete guía de la turbina situado cerca del rodete, sobre la tapa superior de la turbina, posee

una cuba con aceite que es enfriado convenientemente con agua, con el objeto de que no se produzcan temperaturas anormales en la zona de fricción con el eje. Esta agua proveniente del río Caroní es tomada normalmente de los colectores pertenecientes al sistema general de enfriamiento de los distintos equipos de la central hidroeléctrica. Los sistemas de enfriamiento utilizan esta agua sin tratamiento alguno (sistema de un solo paso), y han sufrido rotura de tubos y ensuciamiento de los mismos, así como paradas de unidades generadoras y equipos asociados, con la consecuente pérdida de disponibilidad y confiabilidad del sistema eléctrico [1].

Debido a esto, desde el año 2002 se han realizado algunas investigaciones a fin de obtener las causas a dicha problemática. En junio de 2013, se determinó que existe un mecanismo de corrosión en los serpentines de cobre, por la formación de celdas de aireación diferencial que se desarrollan entre el metal y el bioensuciamiento, observado por la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido, además de un posible crecimiento bacteriano sobre los tubos [1].

Debido a estos resultados y al hecho de que se realizó la sustitución de todos los serpentines de cobre por serpentines de acero, se decidió determinar la posible corrosión inducida microbiológicamente de los materiales pertenecientes a este sistema de enfriamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras metálicas pertenecientes a serpentines de material de cobre JIS H3300 Grado C1020 sin uso desmontados y de acero nuevo AISI 1013 fueron suministradas por el personal de la central hidroeléctrica (fig. 1).



Fig. 1. Tuberías del sistema de enfriamiento.

Con este material se prepararon cuatro (4) cupones de acero y cuatro (4) cupones de cobre, cuyas dimensiones fueron las siguientes: 2,0 cm de ancho x 3,0 cm largo con un espesor de 1.5 mm para el cobre y 2.0 mm el de acero. Posteriormente se realizó la limpieza de los cupones bajo la aplicación de la norma ASTM G1 [2] y fueron instalados cuatro (4) meses en la tubería de salida del sistema de enfriamiento. Cada cupón se colocó en una pletina con “o” rines de goma para evitar la corrosión galvánica como se indica en la figura 2.



Fig. 2. (a) Tubería de salida del agua de enfriamiento y (b) cupones.

Determinación y Contaje de Bacterias Sésiles bajo la Técnica de Dilución Seriada.

El contaje de bacterias sésiles sulfato reductoras (BSR), bacterias productoras de ácido (APB) y bacterias reductoras de hierro (IRB) se realizó bajo el método de la dilución seriada según norma NACE TM0106-2006 [3] y para su cuantificación se aplicó la técnica del número más probable (NMP), a partir de material depositado sobre los cupones de corrosión, que fueron expuestos en la tubería

de salida del sistema de enfriamiento durante cuatro (4) meses.

El procedimiento inicia con el desprendimiento de las bacterias sésiles de las biopelículas formadas sobre los cupones de hierro y de cobre; seguido de la inoculación de los medios de cultivos por dilución en serie. Finalizada la inoculación por método de dilución seriada, se procedió a colocar cada medio de cultivo inoculado en una incubadora por un lapso de siete (7) días para las IRB, 21 días para las APB y 28 días para las BSR a una temperatura de 34 – 37 °C.

Culminado el tiempo estipulado por la norma NACE RP0775 [4] se verificó el cambio de color de cada uno de los viales con el fin de identificar el tipo de bacteria presente en los sistemas de enfriamientos y cuantificarlas mediante la técnica NMP como se muestra en la Tabla I. La formación de un precipitado negro en el fondo o en las paredes del vial indica la presencia de BSR, por su parte, el cambio de color de rojo a amarillo en el vial indica la presencia de APB, asimismo el cambio de color de amarillo a verde en el vial indica la presencia de IRB.

Tabla I. Interpretación de Resultados
NACE TMO 0194 [5]

Nro. Viales positivos	Dilución real de la muestra	Crecimiento de bacterias por mL	Reportes de bacterias por mL
1	1:10	1:9	10
2	1:100	10:99	100
3	1:1.000	100:999	1.000
4	1:10.000	1.000:9.999	10.000
5	1:100.000	10.000:99.999	100.000
6	1:1.000.000	100.000:999.999	1.000.000

Análisis de la morfología de la biopelícula.

La morfología de las biopelículas presentes en las muestras se visualizaron a través de un Microscopio Electrónico de Barrido modelo Fei serie Quanta 200, acoplado a un retrodispersador de energía con la finalidad

de obtener el porcentaje de los elementos presentes en todas las muestras.

Para la observación en el microscopio fue necesario realizar la fijación de las biopelículas sobre cada sustrato metálico; por lo que cada cupón fue sumergido en una solución de Trump's 4F:1G (Formaldehído al 37 % - 40 % con glutaraldehído al 25%) [6] por un espacio de 1 hora y 30 minutos, posteriormente fueron colocados en una solución Buffer de Sorenson's de Fosfato de Sodio 0.1 mol/L a pH 7.2 – 7.4 por 30 min [7]. Transcurrido este tiempo, los cupones fueron llevados a un proceso de deshidratación sumergiéndolos en alcohol etílico al 50, 75, 95 y 100 % por un tiempo de 2 h. Finalizada la deshidratación se colocaron los cupones en acetona al 100% por una hora, secado en un desecador y recubiertos con oro/paladio [8] en un recubridor iónico (fig. 3).

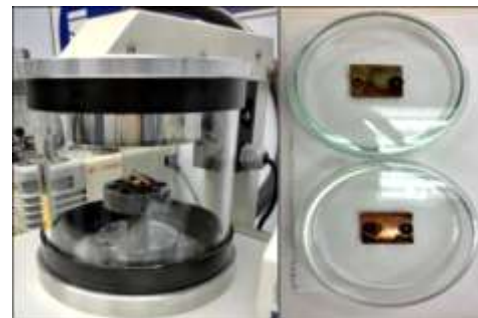


Fig. 3. Fijación de biopelícula con recubridor iónico en cupones

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación y Contaje de Bacterias Sésiles bajo la Técnica de Dilución Seriada.

De la técnica de dilución seriada se obtuvo cuatro (4) viales positivos de medios de cultivos de bacterias sésiles reductoras de hierro (IRB) (Fig. 4a), pertenecientes a las biopelículas sobre el acero AISI 1013, y cero viales positivos de biopelículas depositadas sobre el sustrato de cobre JIS H3300, indicando que sobre ese sustrato no crecen bacterias sésiles reductoras de hierro. En relación con los viales inoculados para determinar la presencia de bacterias productoras de ácidos (APB), dieron positivos

dos (2) viales (fig. 4b), para ambos materiales, indicando crecimiento de estas bacterias sobre los mismos. Y finalmente se obtuvo un (1) vial positivo en medios de cultivos de Bacterias Sulfatos Reductoras (BSR), de biopelículas sobre el sustrato acero y ningún vial positivo para las biopelículas en el sustrato cobre.



Fig. 4. (a) Viales Positivos de IRB. (b) Viales positivos de APB en Cobre

En cuanto al conteo de bacterias realizados por la prueba NMP presentado en la Tabla I, se determinó que las bacterias con mayor crecimiento son las IRB, mostrando una tinción de cuatro (4) viales, lo que cuantitativamente indica 10,000 bacterias por ml. En cuanto al conteo de APB, se determinó cuantitativamente que existen 100 bacterias por ml, en ambos sustratos. Finalmente, se pudo cuantificar la tinción de un vial de SRB, el cual es equivalente a 10 bacterias por ml.

Análisis de la morfología de la biopelícula.

El crecimiento de una biopelícula sobre el sustrato metálico del acero se observa en la figura 5, de aspecto elástico sobre una capa de bioensuciamiento y productos de corrosión.

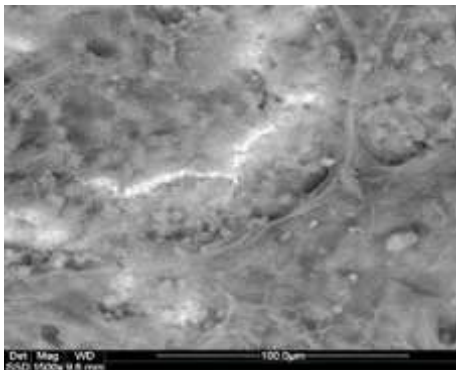


Fig. 5. Biopelícula sobre Acero.

En el sustrato metálico del cobre, el crecimiento de la biopelícula es similar, como se muestra en las imágenes de la figura 6, donde se puede observar la formación de una densa capa de aspecto polimérico con morfología de empaquetamiento y sin morfología celular bacteriana visible.

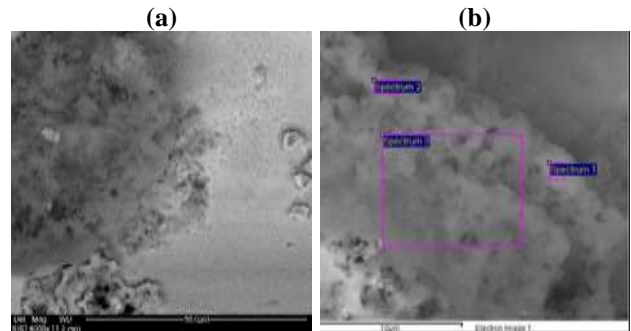


Fig. 6. (a) Imagen de biopelícula con empaquetamiento sin morfología celular en el cobre. (b) Imagen de biopelícula con empaquetamiento sin morfología celular.

De acuerdo al EDS, referente a la biopelícula mostrada en la figura 6b, mostrado en la tabla II; la biopelícula está formada por un alto contenido de carbono y oxígeno, además de hierro y cobre, indicando la presencia de un exopolímero nombrado como sustancia polimérica extracelular (EPS).

Tabla II. Análisis Elemental de la biopelícula sobre el sustrato metálico cobre (fig. 6b).

Elemento	1	2	3
% C	21.73	13.50	21.65
% O	34.53	26.30	29.37
% Si	1.13	1.18	0.84
% P	1.02	1.16	1.22
% Cl	0.67	1.03	0.84
% Ca	0.52	0.63	0.46
% Fe	25.53	29.44	17.50
% Cu	14.88	26.77	28.12
Total	100	100	100

La EPS puede contener productos de corrosión, material orgánico e inorgánico como grupos carboxilos que puede interactuar con el ión cobre, ácidos y dióxido de carbono

que se forman con el desarrollo y madurez de las biopelículas. También se observó el elemento hierro, el cual puede provenir de materiales suspendidos y/o bacterias oxidadoras de hierro que debieron depositarse sobre el cobre por arrastre durante la exposición.

En la figura 7, se observa un microensuciamiento con una alta densidad de estructuras celulares agrupadas con morfología bacterianas de diferentes formas. Unas de ellas, las más abundantes, son las de tipos filamentosas enlazadas entre sí, otras de tipos redondeadas y escasas en forma de bacilos [9]. Este agrupamiento observado demostró el crecimiento de bacterias de hierro que se está desarrollando sobre el acero AISI 1013. Un posible tipo de bacterias presentes de tipo filamentosas como las mostradas, son las bacterias pertenecientes al grupo de bacterias *Leptothrix* y *Sphaerotilus*. [10].



Fig. 7. Imagen de morfología bacteriana sobre el acero.

Tabla III. Análisis Elemental por EDS del acero (Fig. 7)

Elementos	1	2
% C	16.08	20.01
% O	32.38	10.40
% Al	0.59	
% Si	1.02	
% P	1.44	
% Fe	13.37	
% Cl	0.43	
% Ca	0.30	
% Cu	34.39	69.58
Total	100	100

El análisis elemental realizado sobre la morfología bacteriana de la fig. 7, mostrado en la Tabla III, indicaron

que existe una alta proporción de hierro, oxígeno y carbono sobre esta morfología.

A través del análisis elemental realizado por EDS (tabla IV) dentro de las células bacterianas en forma de cápsula mostrada en la figura 8b, se observó altos contenidos de oxígeno, hierro y carbono, permitiendo inferir sobre la presencia de óxidos e hidróxidos, y de otros tipos de bacterias de hierro diferentes que posiblemente bajo esta morfología sea del tipo *Siderocapsa*.

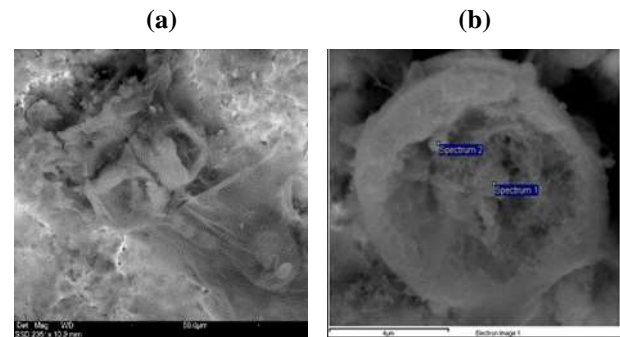


Fig. 8. (a) Imagen de estructuras celulares con morfología bacteriana esferoidal y (b) en forma de cápsulas.

Tabla IV. Análisis Elemental por EDS del acero (fig. 8).

Elementos	1	2
% C	15.95	17.84
% O	42.96	46.14
% Na	3.54	3.28
% Si	-	0.38
% P	6.45	5.50
% Fe	30.50	26.10
% Zn	0.59	0.76
Total	100	100

En cuanto a la morfología de la biopelícula sobre el cobre, mostrada en la figura 9a, se puede confirmar su extensión sobre el sustrato metálico y su denso espesor, así como también se puede ver agujeros, y células bacterianas en forma de palillos y de forma circular, tal como se muestra en la figura 9b.

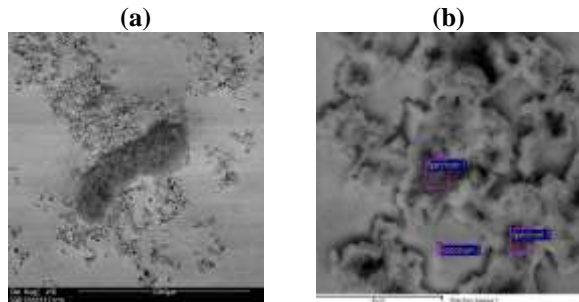


Fig. 9. (a) Imagen de biopelícula sobre el Cobre. (b) Imagen de morfología celular dentro de la biopelícula.

En el análisis elemental sobre esta biopelícula (tabla V) se encontró alta cantidad de cobre, carbono y oxígeno, lo que evidencia que posiblemente haya la presencia de productos de corrosión de cobre, exopolímeros, posible formación de dióxido de carbono y ácidos carbónicos dependiendo de la madurez de la biopelícula y presencia de bacterias, las cuales serían productoras de ácidos sobre la superficie metálica del cobre, debido a la tinción positiva de dichas bacterias en los medios de cultivos realizada anteriormente.

Tabla V. Análisis Elemental por EDS del Cobre (fig. 9b)

Elementos	1	2	3
%C	10.52	13.89	25.81
%O	3.45	6.19	3.34
%Cu	86.03	79.92	70.85
Total	100	100	100

En la figura 10 se muestran las imágenes de partículas en su gran mayoría con microestructura redonda de color más oscuro sobre la biopelícula formada sobre el sustrato cobre.

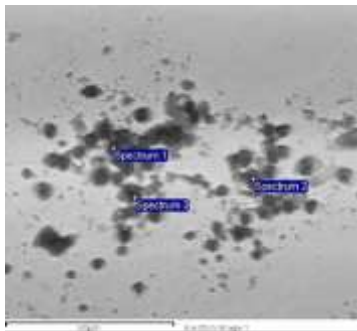


Fig. 10. Imágenes de morfologías redondas y oscuras sobre el cobre.

El análisis elemental realizada sobre las morfologías redondas mostradas en la figura 10 y reflejadas en la tabla VI, indican que hay una alta cantidad de carbono y similar proporción de cobre y oxígeno en estas partículas, lo que evidencia que existen grupos carboxilos en el exopolímero formados sobre el cobre, que no son más que ácidos carboxílicos, los cuales interactúan con este metal, tal como se mencionó anteriormente. Los iones metálicos concentrados de la fase acuosa o en el sustrato dentro de la biopelícula aumentan las tasas de corrosión, proporcionando una reacción catódica adicional. La figura 11 muestra un esquema de la corrosión del cobre en presencia de exopolímeros con crecimiento de bacterias ácidas o presencia de grupos carboxílico del polímero (EPS), el cual provoca la ionización del cobre [11-12].

Tabla VI. Análisis elemental de partículas sobre sustrato metálicos cobre (Fig.10)

Elemento	1	2	3
% C	49.81	49.15	48.98
%o	20.22	24.12	21.77
%fe	0.36	0.63	0.45
%cu	29.62	26.09	28.81
total	100	100	100

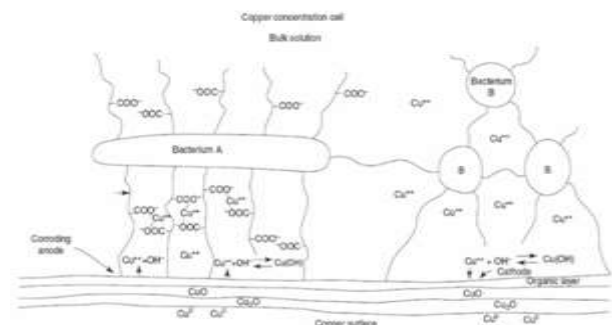


Fig. 11. Procesos de corrosión del Cobre en presencia de grupos carboxilos.

En términos generales, el bioensuciamiento presente, genera la formación de una biopelícula y la adhesión de microorganismos que forma un exopolímero, como se observó en las imágenes con el MEB, que se van

extendiendo con el desarrollo de la biopelícula, dando paso al crecimiento de la población microbiana. [8]

Para el caso del acero, el bioensuciamiento sobre este sustrato ha provocado el crecimiento de colonias de bacterias reductoras de hierro, productoras de ácidos y posiblemente bacterias sulfatos reductoras, debido a que las biopelículas formadas sobre el acero poseen los nutrientes esenciales para el desarrollo de estas bacterias.

A medida que se va desarrollando la biopelícula, el exopolímero va cambiando de pH, produciéndose la acidificación del medio, dando paso al crecimiento de las bacterias productoras de ácidos, mecanismo que es mucho más evidente en el cobre. Las biopelículas de alto espesor desarrolladas en el cobre son ricas en grupos carboxílicos los cuales se enlazan con los iones metálicos de cobre, concentrando estos iones dentro de la biopelícula, tal como se determinó en los análisis elementales [11-12].

CONCLUSIONES

Mediante la Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y de la Espectroscopia de Energía Dispersiva (EDS) se pudo confirmar la presencia de bacterias reductoras de hierro sobre el acero, y bacterias productoras de ácidos que atacan también al cobre, indicado por la tinción positiva de los medios de cultivos. La técnica permitió visualizar e identificar en los cupones de acero AISI 1013 y cobre JIS H3300 el crecimiento de la biopelícula o sustancia polimérica extracelular (EPS), en la cual se desarrolló el crecimiento bacteriano, que generó en ellos múltiples picaduras, indicando que ambos materiales son totalmente vulnerables en este medio a los procesos de corrosión inducidos microbiológicamente.

AGRADECIMIENTO

Un sincero agradecimiento para el Centro de Estudios de Corrosión de la Universidad Experimental Politécnica Antonio José de Sucre, en Puerto Ordaz y al Instituto de Investigaciones Metalúrgicas y de Materiales de la

Siderúrgica del Orinoco por apoyar, permitir y ser parte de la realización de esta investigación.

REFERENCIAS

- [1] Linares, L. (2014) “*Evaluación de la Corrosión Microbiológica en los Sistemas de Enfriamiento del Proceso de Generación de la Central Hidroeléctrica Antonio José de Sucre en Macagua*”, NOT-14-001.
- [2] ASTM International. (2003) “*Standard practice for preparing, cleaning, and evaluating corrosion test specimens*” ASTM G1-03. United States.
- [3] NACE International the corrosion society. (2006) “*Detection, testing, and evaluation of microbiologically influenced corrosion (MIC) on external surfaces of buried pipelines*” NACE TM 0106. Houston, Texas.
- [4] NACE International. (2005) “*Preparation, Installation, Analysis, and Interpretation of Corrosion Coupons in Oilfield Operations*” NACE RP0775. Standard Recommended Practice.
- [5] NACE International the corrosion society. (2004). “*Field monitoring of bacterial growth in oil and gas systems*” NACE TM 0194. Houston, Texas.
- [6] Dykstra, M-J. y Reuss, L-E. (2003) “*Biological Electron Microscopy: Theory, techniques and troubleshooting. 2nd ed.*” Springer US, North Carolina State University, pp.75-87. doi: 10.1007/978-1-4419-9244-4
- [7] Hayat, M-A. (1981) “*Fixation for Electron Microscopy*” Department of Biology Kean College of New Jersey Union, New Jersey, Academic Press.
- [8] De Romero, M; Ocando, L; Bracho, M. (2007) “*Corrosión Inducida Microbiológicamente (MIC)*” Universidad del Zulia, Facultad de Ingeniería, Centro de Estudios de Corrosión.
- [9] Little, B., Lee, J. (2006) “*Microbiologically Influenced Corrosion*”, John Wiley & Sons, Inc. doi: 10.1002/047011245X

- [10] Ocampo, E. (2004) “*Microbiología Ambiental. Clase VIII: Microorganismos en sistemas de enfriamiento*” Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. http://docencia.udea.edu.co/bacteriologia/MicrobiologiaAmbiental/microbiologia_8.pdf.
- [11] Cullimore, D-R. (2010) “*Practical Atlas for Bacterial Identification. 2nd Ed.*” CRC Press. Boca Raton, Florida, EE.UU. <https://doi.org/10.1201/9781420087987>
- [12] Cullimore, D-R. (2008) “*Practical Manual of Groundwater Microbiology. 2nd Ed.*” CRC Press, Taylor & Francis Group. Boca Raton, Florida, EE.UU.