
**RESPUESTA EN FRECUENCIA Y ANÁLISIS DE BIODIVERSIDAD DE LA
BIOCORROSIÓN DEL ACERO AL CARBÓN EN CONTENEDORES DE GASOLINA
DE LABORATORIO CON FRACCIONES ACUOSAS DEFINIDAS**

**Domínguez Benetton X. *, Rojas-Herrera R., Alcocer Campos E., Martín
López M.**

Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán

Biotecnología y Bioingeniería

Av. Juárez No. 421, Ciudad Industrial,

97288. Mérida, Yucatán, México.

** xoch.dominguez@uady.mx*

ABSTRACT

Microbial corrosion occurs in extraction, processing, distribution and storage facilities for crude oil and refining industries, due to water intrusion and consequent biofouling. In these facilities, problems due to microbial activity are particularly difficult to diagnose and control. Here, the influence of a bacterial consortium isolated from commercial gasoline facilities was evaluated in laboratory conditions. The frequency response was investigated using EIS and OCP. The biodiversity was determined by DGGE profiles of 16S rRNA-defined populations. Reductions of the water content associated to gasoline resulted in decreased corrosion rates through time under biotic or abiotic conditions; however, corrosion rates are higher under bacterial influence for a wide range of gasoline concentrations. Corrosion rates significantly increase under the presence of bacteria in different gasoline-supplemented conditions. Biofilm formation was detected; the formation of these complex layered bacterial structures result in localized corrosion processes. DGGE analysis evidenced complex banding patterns and, consequently, great bacterial diversity. Based on the fundamental information obtained with the present study, important recommendations for gasoline storage and distribution facilities that might be affected by microbial corrosion problems are suggested, as a preliminary guide for initiating actions taken for microbial control.

Keywords: microbial corrosion, gasoline-containing environment, electrochemical impedance, bacterial diversity.

RESUMEN

La corrosión microbiana ocurre en infraestructura de los procesos de extracción, procesamiento, distribución y almacenamiento del petróleo productos refinados, debido a la presencia de agua y consecuente bioensuciamiento. En estas instalaciones, los

problemas originados por la actividad microbiana son particularmente difíciles de diagnosticar y controlar. Aquí, se evaluó en condiciones de laboratorio la influencia electroquímica de un consorcio bacteriano aislado de instalaciones de distribución de gasolina comercial. La respuesta en frecuencia fue investigada mediante EIS y OCP. La biodiversidad fue determinada mediante perfiles poblacionales de 16S rRNA con DGGE. La reducción del contenido de agua asociado a la gasolina resultó en una disminución de las velocidades de corrosión con respecto al tiempo; sin embargo, las velocidades de corrosión son mayores en presencia de bacterias. Se detectó la formación de biopelículas; el desarrollo de estas complejas estructuras resultó en procesos de corrosión localizada. El análisis de DGGE evidenció patrones de bandeo complejos y, consecuentemente, alta diversidad bacteriana. Con base en la información fundamental obtenida, se sugieren importantes recomendaciones para instalaciones que distribuyen o almacenan gasolina que pueden ser afectadas por problemas de corrosión microbiana, como guía preliminar para iniciar acciones a tomar para el control microbiano.

Palabras clave: corrosión microbiana, ambientes que contienen gasolina, impedancia electroquímica, diversidad bacteriana.

INTRODUCCIÓN

La refinación de petróleo constituye una de las principales industrias a nivel mundial y tiene importancia estratégica en el desempeño de las civilizaciones actuales. Es por ello que debe garantizarse el buen funcionamiento de su infraestructura durante la producción, almacenamiento, distribución y comercialización. Durante estas etapas, los combustibles refinados entran en contacto con agua—especialmente en ambientes con alta humedad ambiental que se condensa—promoviendo la formación de una interfaz agua-hidrocarburo en la que pueden crecer ciertos microorganismos [1,2]. La acumulación de agua es considerada un factor de riesgo que favorece las fallas por corrosión. Por otra parte, se conoce que la formación de biopelículas es la forma de crecimiento microbiano predominante en ambientes naturales e industriales, cuya presencia puede desencadenar biocorrosión o bioensuciamiento en superficies metálicas, o biodegradación y biocontaminación de los combustibles [3]. Estos eventos pueden tener como consecuencia fallas en los materiales y efectos en la contaminación de ambientes con hidrocarburos recalcitrantes, metales pesados y otros compuestos refractarios [4,5,6]. Entre la flora microbiana que puede prosperar en tales condiciones, se encuentran microorganismos aerobios, anaerobios estrictos o facultativos que utilizan hidrocarburos del petróleo o de combustibles refinados como única fuente de carbono, por ejemplo: tolueno, alquilbencenos, benceno, naftaleno, fenantreno, n-alcanos >C₆, y mezclas de hidrocarburos, entre otros, además de oxigenantes, como metil tert-butil éter (MTBE) y alcohol terbutílico (TBA), en combinación con una gran variedad de aceptores de electrones. Sin embargo, poco se conoce sobre los microorganismos que degradan este tipo de hidrocarburos al estar expuestos a ellos en la cadena de procesos de la industria de refinación, distribución y comercialización de los mismos. La

corrosión microbiana en la industria petrolera ha sido estudiada en diferentes sistemas, como ductos enterrados y sumergidos, tanques de almacenamiento de productos químicos, instalaciones para la generación de electricidad, sistemas para el tratamiento de aguas, torres de enfriamiento, pozos petroleros, plataformas marinas, etc. [7,8,9,10,11,12,13,14]. En condiciones de laboratorio se ha estudiado principalmente la influencia de bacterias sulfato-reductoras (BSR), nitrato-reductoras (BNR), oxidantes de hierro, productoras de ácidos orgánicos, reductoras de tiosulfato y metanogénicas, entre otras, en donde cultivos puros de estos microorganismos han demostrado aumentos en las velocidades de corrosión [15,16,17,2]. Aunque estos experimentos han sido fundamentales para el entendimiento de mecanismos de corrosión microbiana, la importancia del papel global de comunidades microbianas complejas en la mayoría de los ambientes es relativamente nueva y de gran interés industrial [18,3]. En el caso de sistemas que están en contacto con combustibles refinados del petróleo, la información disponible es escasa. Como consecuencia, este estudio caracteriza la corrosión del acero al carbón por influencia de consorcios microbianos aislados de gasolina proveniente de sistemas de distribución comercial. La respuesta en frecuencia fue investigada mediante espectroscopía por impedancia electroquímica (EIS) y mediciones del potencial a circuito abierto (OCP). La biodiversidad fue determinada mediante perfiles metagenómicos de 16S rRNA con electroforesis en gel con gradiente desnaturizante (DGGE). Los resultados obtenidos constituyen un acervo documental significativo para realizar recomendaciones sobre aspectos fundamentales que deben ser tomados en cuenta en instalaciones que distribuyen o almacenan gasolina y que pueden ser afectadas por problemas de corrosión microbiana. Asimismo, los resultados pueden ser utilizados como una guía preliminar para iniciar acciones de monitoreo y control microbiano en sistemas industriales que contienen o distribuyen combustibles refinados.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación compara 4 sistemas abióticos (en ausencia de bacterias) con 4 sistemas bióticos (en presencia de un consorcio microbiano), bajo diferentes condiciones. Estos sistemas se evaluaron en celdas electroquímicas con un medio basal como electrolito. Independientemente, se evaluaron sistemas homólogos suplementados con fracciones de 1%, 10% y 20% v/v de gasolina comercial Premium estéril, respectivamente. La diversidad bacteriana se evaluó directamente en la muestra colectada (suplementada con medio de cultivo), la cual sirvió como inóculo para los sistemas bióticos. La caracterización electroquímica se realizó para los 8 sistemas electroquímicos mencionados, por duplicado.

Inoculo y condiciones de cultivo El consorcio microbiano utilizado como cultivo semilla se obtuvo a partir de la siembra directa en 25 mL de una fracción de la muestra colectada (10% v/v) en un medio de cultivo líquido, cuya composición por litro de agua destilada es: 1g de NH_4Cl , 0.3g de K_2HPO_4 , 0.3g de KH_2PO_4 , 0.2g de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 2g de NaCl , 0.1g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1g de extracto de levadura, 1g de triptona/peptona, 0.5g de Cisteina-HCl, 0.02g de NaHCO_3 , 20 mM de lactato de sodio, 1ml de de resazurina al 1% como indicador de óxido-reducción y 0.5

mL de una solución al 2% p/v de Na_2SO_4 como aceptor de electrones. El pH del medio fue ajustado a 7.2. Las condiciones anaerobias estrictas se lograron mediante procedimientos descritos en la literatura científica [2] Posteriormente, el medio fue esterilizado a $121^\circ\text{C}/15\text{lb}/\text{in}^2$ durante 15 min. El medio de cultivo semilla fue suplementado con 50% v/v de gasolina Premium estéril. El medio descrito (sin gasolina) fue utilizado como base para los experimentos referidos con las diferentes fracciones de gasolina. Los sistemas electroquímicos, fueron inoculados con 10% v/v del cultivo semilla. Todos los cultivos se mantuvieron a 30°C durante las diferentes etapas de experimentación.

Configuración de la celda electroquímica Se utilizaron celdas electroquímicas de vidrio de dos electrodos, con una pieza de acero al carbón cilíndrica de aproximadamente 28 cm^2 de área superficial como electrodo de trabajo. Como electrodo auxiliar se utilizó una pieza metálica de Pt/Au 95/5% de aproximadamente 28 cm^2 de área superficial. Los electrodos fueron recubiertos con una película de poli-tetrafluoroetileno verde, exceptuando una cara expuesta al electrolito de estudio. El electrodo auxiliar se colocó en paralelo con electrodo de trabajo, de modo que las caras expuestas de ambos electrodos estuvieran enfrentadas. Los electrodos auxiliares fueron también utilizados como electrodos de pseudo-referencia, debido a que su potencial se mantiene estable con respecto al tiempo, bajo las condiciones de experimentación. Las celdas fueron selladas con tapones de goma butírica impermeable al paso de gases, en los cuales los electrodos fueron fijados a presión y con silicón. Los electrodos fueron esterilizados por inmersión en etanol al 70% durante 30 min. y secados bajo flujo laminar de aire estéril a 30°C . Las celdas fueron esterilizadas en autoclave. Posteriormente, el interior de las celdas vacías fue gaseado con N_2 estéril. El medio de cultivo estéril (suplementado con gasolina en los casos correspondientes) fue inyectado a la celda en condiciones estériles y anaerobias. Las celdas se mantuvieron en posición horizontal durante la experimentación.

Evolución de la respuesta electroquímica Se utilizaron las técnicas de potencial a circuito abierto (OCP) y espectroscopía por impedancia electroquímica (EIS). Se realizaron mediciones de OCP y EIS utilizando la interfaz electroquímica Voltalab 80, durante dos intervalos de tiempo, denominados 0 h y 48 h. Las mediciones de OCP fueron tomadas a 1 punto/segundo durante intervalos de 30 min. y se reporta la media de los valores obtenidos durante esta medición al tiempo indicado. Las mediciones de EIS se tomaron logarítmicamente (10 puntos/década), a una amplitud de 10 mV (con respecto al OCP) y el intervalo de frecuencias utilizado fue de 10 kHz a 10 mHz.

Análisis de la respuesta electroquímica

El análisis de impedancia en sistemas electroquímicos se realizó utilizando circuitos eléctricos equivalentes. Este tipo de análisis se justifica cuando el sistema de estudio es controlado por mecanismos complejos y desconocidos, y quieren obtenerse datos cuantitativos

para la formulación de hipótesis sobre su respuesta. Aquí, se utilizó este tipo de análisis por tratarse del estudio de una comunidad microbiana compleja y un electrolito complejo. Se utilizaron circuitos de resistores (R) acoplados con elementos de fase constante (Q). La impedancia de un CPE está representada en la Ecuación 1.

$$Z_{CPE} = \frac{1}{(j\omega)^n Q} \quad \text{Ec. 1}$$

Q define el grado de dispersión de los procesos electroquímicos y es proporcional a valores distribuidos de las pseudo-capacitancias interfaciales (C), j se refiere al número imaginario $\sqrt{-1}$, ω a la frecuencia (Hz) y n es un parámetro adimensional que toma valores entre 0 y 1. Cuando $n=1$, Q se comporta como un capacitor, mientras que cuando el parámetro n se acerca a 0 implica que la distribución de alguna propiedad del sistema electroquímico es heterogénea [2,19]. Por otra parte, el análisis cualitativo de las tendencias del potencial mixto se obtuvo mediante la extrapolación del OCP y la resistencia a la polarización obtenida a partir de los diagramas complejos de impedancia. Las velocidades de corrosión V_{corr} se estimaron de acuerdo con procedimientos descritos en la literatura científica [2].

Estudio de diversidad microbiana por DGGE La extracción de ADN se realizó de acuerdo con el procedimiento descrito por Rojas-Herrera y col. [20]. La integridad del ADN total obtenido fue verificada por electroforesis en gel de agarosa al 1 %, y este fue conservado a -20 °C hasta su análisis. Para la PCR se utilizaron 50 ng del ADN extraído e iniciadores universales para el gen 16S rDNA, que amplifican fragmentos de aproximadamente 200 pb. El programa de PCR utilizado se encuentra descrito en la literatura científica [21]. Se realizó la electroforesis de los productos de PCR en un gel de agarosa al 1.5 %. La DGGE se realizó en un sistema DCode (BioRad) utilizando el procedimiento descrito por el fabricante. Los geles obtenidos fueron tenidos por 30 min. con SYBR Gold (Molecular Probes) en TAE1X. El número de unidades taxonómicas en cada muestra se definió de acuerdo con el número de bandas obtenidas en la DGGE, las cuales fueron cortadas, resuspendidas en 20 μ l de agua MilliQ, mantenidas a 4°C y secuenciadas. Las secuencias obtenidas fueron comparadas con bases de datos públicas RDP [22,23,24,25] y GenBank [26] usando el programa BLAST [27].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación del OCP Los resultados obtenidos de la evaluación del OCP se muestran en la tabla 1. Las magnitudes del OCP aumentan con respecto al tiempo en todos los sistemas estudiados, con excepción de los sistemas abióticos suplementados con hidrocarburos recalcitrantes (benceno, tolueno, xileno, MTBE y TBA, a 20 ppm) en donde el OCP disminuye. Pese a que la tendencia global es similar para todos los sistemas, en el caso de los sistemas abióticos las variaciones puntuales (considerando periodos de 30 min.) ocurren gradualmente en el orden de 1 mV hacia el sentido positivo, mientras que en presencia del consorcio bacteriano ocurren fluctuaciones que oscilan constantemente entre 16 y 18 mV tanto en el sentido positivo como negativo para el mismo lapso. Esto sugiere que en presencia de bacterias hay una

ocurrencia de fenómenos localizados, mientras que en condiciones abióticas los procesos interfaciales ocurren en forma generalizada y progresiva. El OCP en ausencia de bacterias llega a un valor estable al cabo de 48 h, mientras que en el sistema biótico se conservan las fluctuaciones hasta este tiempo. Incrementos en el OCP están frecuentemente asociados con fenómenos de despolarización catódica y a la formación de películas pasivas de productos de corrosión; la predominancia de uno u otro proceso depende del comportamiento de la corriente de corrosión.

Caracterización de la respuesta en frecuencia La respuesta de impedancia electroquímica obtenida para los sistemas con y sin bacterias se presenta en las figuras 1 y 2, respectivamente. En las figuras 1(a) y 2(a) se observa que la impedancia total de los sistemas bióticos y abióticos al tiempo inicial (0 h) aumenta conforme aumenta la concentración de gasolina. En el caso del sistema abiótico la magnitud de la impedancia total aproximadamente se triplica al pasar de 1% a 10% de concentración de gasolina, al igual que de 10% a 20% (figura 1(a)); en este mismo sistema se observa que al aumentar la concentración de gasolina el control de los procesos de corrosión cambia de estar limitado por las reacciones electroquímicas a un control por limitaciones difusionales. Cuando existe la presencia de bacterias al tiempo inicial (figura 2(a)) la impedancia total se duplica, sin embargo, la magnitud máxima de impedancia alcanzada en este sistema es menor en casi un orden de magnitud comparada con la obtenida para el sistema abiótico correspondiente. La presencia de las bacterias modifica la conductividad del electrolito, lo cual se asocia con la necesidad de estos microorganismos de obtener compuestos de la interfaz medio de cultivo-gasolina, con lo cual modifican sus propiedades fisicoquímicas. A las 48 horas de exposición del acero al carbón a los sistemas biótico y abiótico, se observa que tanto para el sistema biótico como abiótico, la impedancia total del sistema disminuye. A partir de los datos obtenidos con la simulación con circuitos eléctricos equivalentes (no presentados en este documento), se calcularon las velocidades de corrosión para todos los sistemas a los diferentes tiempos, las cuales están directamente relacionadas con las magnitudes de impedancia. La velocidad de corrosión en ausencia de bacterias se mantiene en el orden de $10E-18$ mm/año a $10E-13$ mm/año con respecto al tiempo, y en presencia de bacterias esta se incrementa de 0.13 mm/año a 0.44 mm/año. Los parámetros obtenidos con las simulaciones demuestran que mientras en condiciones abióticas se mantiene homogénea la distribución de las propiedades del sistema electroquímico, en presencia de bacterias existe una alta heterogeneidad en dichas propiedades. Cuando las bacterias forman biopelículas, como en el caso de los sistemas de estudio, estas tienen asociadas grandes heterogeneidades estructurales, geométricas, físicas, químicas, biológicas y electroquímicas; las cuales se sugiere son la causa de las heterogeneidades del sistema que favorecen procesos de corrosión localizada.

Caracterización de la respuesta en frecuencia Al analizar en conjunto los resultados de OCP y EIS (mediante diagramas de Evans cualitativos) se observa que existen mecanismos de corrosión característicos en presencia y ausencia del consorcio microbiano estudiado. Cuando hay la ausencia de bacterias se mantiene una inhibición constante de la corrosión, lo cual se refleja en las excesivamente bajas velocidades de corrosión. Cuando hay la presencia del

consorcio microbiano, el aumento del potencial asociado al aumento de la velocidad de corrosión es indicativo de mecanismos de despolarización catódica sobre la superficie metálica, los cuales se han identificado como altamente perjudiciales para materiales metálicos industriales.

Análisis de diversidad microbiana La escasez de turbidez observada en los cultivos semilla no es proporcional a la gran diversidad microbiana encontrada mediante el análisis de DGGE. Se sugiere que la formación de biopelículas en la interfaz medio de cultivo-gasolina es un factor de gran influencia en este comportamiento. La información obtenida permitió determinar homologías con coeficientes de similitud superiores a 0.94, con secuencias de la base de las bases de datos utilizadas. La comunidad bacteriana estudiada estuvo constituida en su mayoría por bacilos gram negativos (>60%). Estudios complementarios con técnicas cultivo-dependientes muestran que además de la diversidad genotípica, existe gran diversidad fisiológica de las bacterias presentes en el sistema de estudio. Se observó capacidad para degradar benceno, alquilbencenos, tolueno, xileno, MTBE, TBA, lactato, acetato y pentano como única fuente de carbono y energía. Se sugiere que la presencia en la gasolina de múltiples sustratos provee un ambiente favorable para el desarrollo de una comunidad bacteriana compleja.

Recomendaciones y aspectos significativos Algunos autores han sugerido que la información disponible para la detección y seguimiento de comunidades microbianas en sistemas relacionados con combustibles refinados, así como para la selección y aplicación de tratamientos para su control, es deficiente [3,17,28]. En este estudio se demuestra que puede existir una alta diversidad bacteriana en sistemas de distribución que contienen gasolina comercial, además de que el consorcio microbiano evaluado demostró incrementos significativos en la velocidad de corrosión. Por ello, se sugieren aspectos que podrían considerarse al evaluar la presencia e influencia de comunidades microbianas en sistemas relacionados con las condiciones presentadas. 1) Es importante evaluar constantemente los factores bióticos y abióticos en sistemas con combustibles refinados. Especialmente, la cantidad de agua asociada puede proveer un ambiente propicio para el desarrollo de comunidades microbianas altamente complejas con influencia en las velocidades de corrosión. 2) Una vez detectada la presencia bacteriana es de gran importancia dar seguimiento a las velocidades de corrosión, ya que estos organismos pueden incrementarlas significativamente en un tiempo corto. 3) El uso de técnicas cultivo-independientes facilita la caracterización de complejas comunidades microbianas, sin embargo las técnicas cultivo-dependientes son las que permiten evaluar las velocidades de corrosión y parámetros asociados con actividades microbianas perjudiciales. 4) Es recomendable desarrollar procedimientos que se adecúen a cada sistema de estudio, ya que las posibilidades de encontrar una comunidad microbiana idéntica a otra son nulas y éstas pueden tener diferentes tipos de influencia de acuerdo con las condiciones particulares de estudio.

CONCLUSIONES

Se determinó el efecto electroquímico de la relación electrolito-gasolina en la corrosión microbiana del acero al carbón. Los resultados obtenidos sugieren que a medida que la

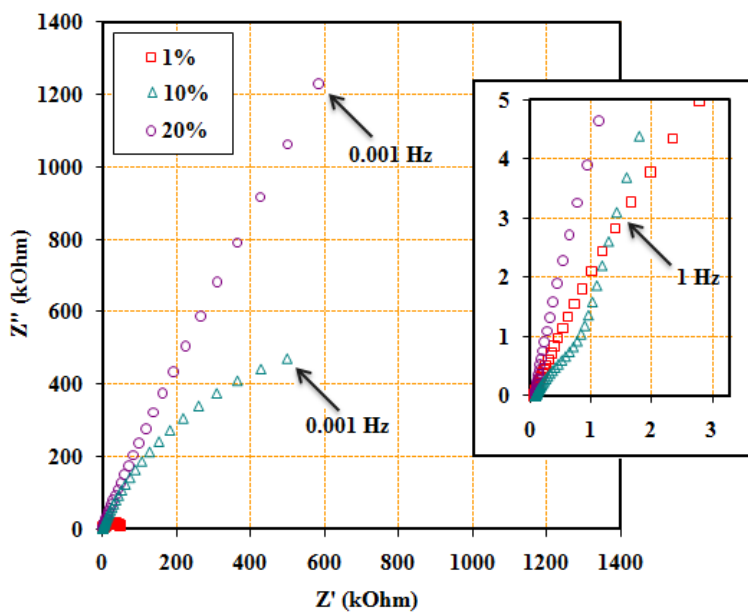
concentración de gasolina se incrementa en presencia de bacterias, la velocidad de corrosión también aumenta considerablemente en comparación con un sistema abiótico y con respecto al tiempo. Desde el punto de vista electroquímico en el caso del sistema abiótico existe un control difusional debido a la gasolina presente en el medio, mientras que el sistema con el consorcio estudiado el control de la corrosión esta dado por procesos de activación pues los productos en la interfaz metal-electrolito tienden a agregarse en estructuras más ordenadas en zonas localizadas por efecto de la formación de biopelículas. Se determinó que el consorcio estudiado presenta alta diversidad bacteriana y metabólica como consecuencia de la alta complejidad de la gasolina en compuestos disponibles para el metabolismo microbiano. La comunidad bacteriana estudiada se incrementa las velocidades de corrosión en presencia de gasolina desde 0.13 mm/año hasta 0.44 mm/año; estas magnitudes sobrepasan los límites de corrosión máximos recomendados para algunas instalaciones de la industria petrolera. Se realizaron algunas recomendaciones básicas a tomar en cuenta para evaluar la presencia e influencia de comunidades microbianas en sistemas relacionados con la presencia de interfaces metal-combustible refinado en donde puede existir la ocurrencia de agua asociada.

REFERENCIAS

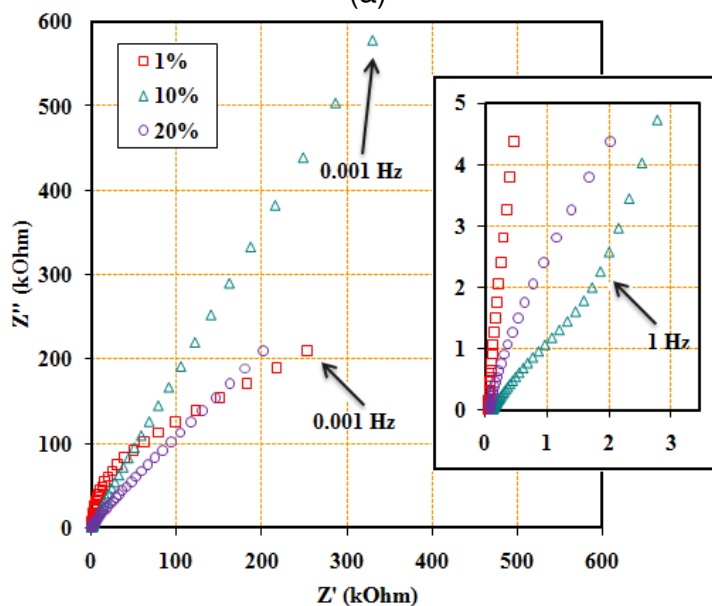
1. Geert L., Tedmund P. T. (1994), Gasoline vapor recovery, United States Patent 5367882.
2. Dominguez Benetton X. (2007). Biocomplexity and Bioelectrochemical Influence of Gasoline Pipelines Biofilms, in Carbon Steel Deterioration: A Transmission Lines and Transfer Functions Approach, Tesis de Doctorado, IMP, México.
3. Gaylarde C. C., Bento F. M., Kelley J. (1999). Microbial contamination of stored hydrocarbon fuels and its control, *Revista de Microbiología*, Vol. 30, p. p. 1–10.
4. Hoyer M., Baldauf R.W., Scarbro C., Barres J., Keeler G. J. (2004). Mercury Emissions from Motor Vehicles, Paper presented at the 13th *International Emission Inventory Conference*.
5. Pedrini Brandao G., Calixto de Campos R., Severino Luna A. (2005). Determination of mercury in gasoline by cold vapor atomic absorption spectrometry with direct reduction in microemulsion media, *Spectrochimica acta. Part B : Atomic spectroscopy*, Vol. 60, No. 5, p. p. 625-631.
6. Conaway C. H., Mason R. P., Steding D. J., Flegal A. R. (2004). Estimate of mercury emission from gasoline and diesel fuel consumption, San Francisco Bay area, California, *Atmospheric Environment*, Vol. 39, Issue 1, pp. 101-105.
7. Pope D. H. (1991). Microbiologically Influenced Corrosion in the Natural Gas Industry, 15GRI Annual Report 92/0006, Gas Research Institute, Chicago II, p. 5.
8. Poulton W.I.J., Cloete T.E., Von Holy A. (1995). Microbiological survey of open recirculating cooling water systems and their raw water supplies at twelve fossil-fired power stations, *Water S. A.* Vol. 21, No. 4, p. 357-364.
9. Zisson P.S., Whitaker J.M., Neilson H.L., Mayne L.L. (1995). Paper No. 264, *Corrosion 95*, NACE, Houston, TX.
10. Kikuchi Y., Matsuda F., Tomoto K. Nishimura M. (1995). *Trans. JWRI* , Vol. 24, p. 63.

11. Mori T., Nonaka T., Tazaki K., Koga M., Hikosaka Y., Noda S. (1992). Interactions of nutrients, moisture and pH on microbial corrosion of concrete sewer pipes, *Water research*, Vol. 26, No. 1, p. 29-37.
12. Smart J.S. (1997). *Journal of Protective Coatings and Linings*, p. 56-64.
13. Samant A.K., Singh S.K., paper no. 280, Corrosion 98, NACE, Houston, TX, (1998).
14. Ferris F.G., Jack T.R., Bramhill B.J. (1992). *Can. J. Microbiol.*, Vol. 38, p. 1320.
15. Castaneda H., X. D. Benetton (2008). SRB-biofilm influence in active corrosion sites formed at the steel-electrolyte interface when exposed to artificial seawater conditions, *Corrosion Science*, Volume 50, Issue 4, p. 1169-1183.
16. Monfort M. N. (2001). Corrosion localisée des aciers au carbone induite par des bactéries sulfatoréductrices: développement d'un capteur spécifique, *Thèse de Doctorat*, Université Paris VI, Spécialité: Electrochimie.
17. Hilbert L. R. (2000). Monitoring Microbially Influenced Corrosion, *PhD Thesis*, Technical University of Denmark.
18. Beech I. B., Gaylarde C. C. (1999). Recent advances in the study of biocorrosion: an overview, *Revista de Microbiología*, 30:177-190, ISSN 0001-3714.
19. Macdonald J. R. ed. (1987). Impedance Spectroscopy, John Wiley, Sect. 2.2.3.4.
20. Rojas-Herrera, R., Narváez-Zapata, J, Zamudio-Maya, M, y Mena-Martínez, M (2008). A Simple Silica-based Method for Metagenomic DNA Extraction from Soil and Sediments. *Molecular Biotechnology*.
21. Muyzer, G., de Waal, E C, y Uitterlinden, A G (1993). Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol* 59: 695-700.
22. Cole, J., Chai, B, Farris, R, Wang, Q, Kulam, S, McGarrell, D, Garrity, G, y Tiedje, J (2005). The Ribosomal Database Project (RDP-II): sequences and tools for high-throughput rRNA analysis. *Nucl. Acids Res.* 33: D294-D296.
23. Cole, J., Chai, B, Marsh, T, Farris, R, Wang, Q, Kulam, S, Chandra, S, McGarrell, D, Schmidt, T, Garrity, G, y Tiedje, J (2003). The Ribosomal Database Project (RDP-II): previewing a new autoaligner that allows regular updates and the new prokaryotic taxonomy. *Nucleic Acids Res* 31: 442-443.
24. Maidak, B. L., Cole, J R, Parker, C T, Jr., Garrity, G M, Larsen, N, Li, B, Lilburn, T G, McCaughey, M J, Olsen, G J, Overbeek, R, Pramanik, S, Schmidt, T M, Tiedje, J M, y Woese, C R (1999). A new version of the RDP (Ribosomal Database Project). *Nucl. Acids Res.* 27: 171-173.
25. Maidak, B., Olsen, G, Larsen, N, Overbeek, R, McCaughey, M, y Woese, C (1997). The RDP (Ribosomal Database Project). *Nucleic Acids Res* 25: 109-111.
26. Benson, D., Karsch-Mizrachi, I, Lipman, D, Ostell, J, y Wheeler, D (2003). GenBank. *Nucleic Acids Res* 31: 23-27.
27. Altschul, S. F., Madden, T L, Schaffer, A A, Zhang, J, Zhang, Z, Miller, W, y Lipman, D J (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res* 25: 3389-3402.
28. Hill, E.C. (1987) Fuels. In *Microbial Problems in the Offshore Oil Industry*, eds. E.C. Hill, J. Shennan and R. Watkinson, Wiley, New York, , p.p. 219-230.

TABLAS Y FIGURAS

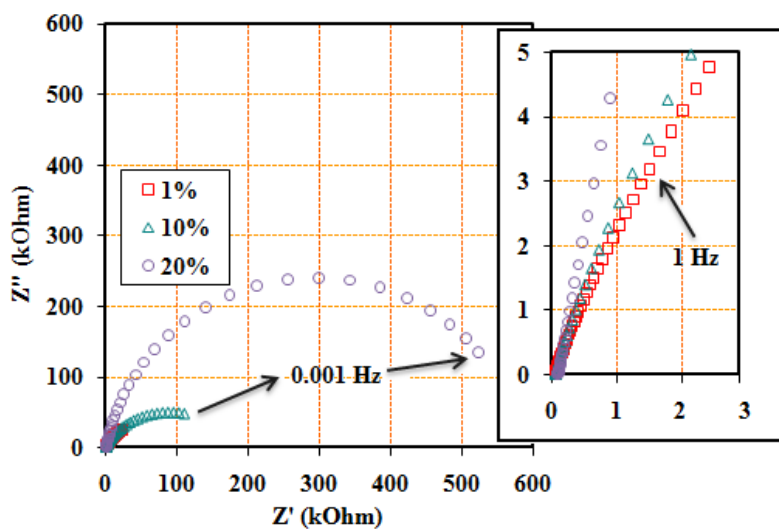


(a)

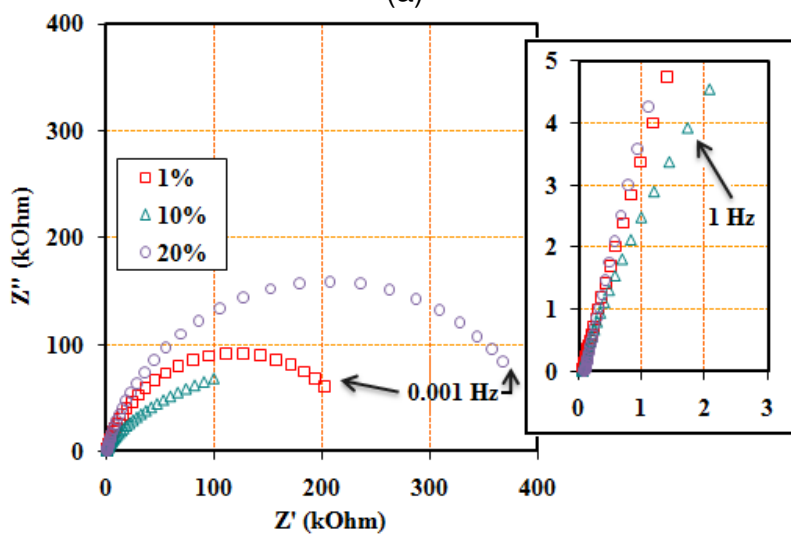


(b)

FIGURA 1. Diagramas complejos de impedancia electroquímica para el sistema abiótico suplementado con gasolina comercial para (a) 0 h y (b) 48 h.



(a)



(b)

FIGURA 2. Diagramas complejos de impedancia electroquímica para el sistema biótico suplementado con gasolina comercial para (a) 0 h y (b) 48 h.

TABLA 1

Magnitudes obtenidas de OCP (vs. pseudo-referencia de Pt/Au 95%/5%) para los sistemas de estudio.

Tiempo (h)	Sin gasolina, sin hidrocarburos recalcitrantes	Hidrocarburos recalcitrantes (benceno, toluene, xileno, MTBE y TBA 20 ppm)	1% de gasolina	10% de gasolina	20% de gasolina
<i>Condiciones abióticas</i>					
0	-0.407	-0.340	-0.440	-0.570	-0.712
48	-0.236	-0.380	-0.324	-0.518	-0.568
<i>Condiciones bióticas</i>					
0	-0.390	-0.360	-0.468	-0.552	-0.582
48	-0.352	-0.200	-0.341	-0.495	-0.472