

Biopelículas y Biocorrosión: Una Revisión Integral de su Naturaleza y de las Técnicas de Microscopía y Electroquímica para su Estudio.

M. Arruebarrena a*

^aLaboratorio de Síntesis y Tratamiento de Materiales, Centro de Ingeniería de Materiales y Nanotecnología, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, IVIC. Apartado 20632, Caracas 1020-A, Venezuela.

*Autor de correspondencia: actinio2022@gmail.com.

Received: 25-09-2023

Accepted: 06-06-2024

Published: 01-10-2024

RESUMEN

El daño ocasionado por corrosión en materiales metálicos es un problema que genera elevados costos económicos y ambientales, que, en lo económico. Según el Banco Mundial, el costo global en Producto Interno Bruto (PIB) debido a la de corrosión fue de 96.1 billones de dólares estadounidenses para 2021, de los cuales, se estima que un 20% es debido a la corrosión que involucra la presencia de bacterias, sin embargo, no se cuenta con estadísticas sobre costos ambientales ocasionados por este problema [1]. La actividad corrosiva de microorganismos en superficies metálicas no clasifica como un tipo de corrosión, sino como un proceso o mecanismo que puede influenciarla e inclusive iniciarla o acelerarla, sin importar el tipo de corrosión que se genere. La única condición necesaria para iniciar o acelerar la corrosión microbiana en una superficie metálica, es la formación de biopelículas, las cuales están definidas como sistemas complejos debido a la biodiversidad en las mismas. Los microorganismos que la desarrollan generan diferentes metabolitos, los cuales inducen cambios físicos y químicos localmente, según los ecosistemas que se van desarrollando. Estos diferenciales en la interfaz del material producen reacciones electroquímicas que desfavorecen la estructura metálica. Por lo complejo de la naturaleza de estos procesos, normativas, procedimientos y metodologías de operación específicos patentados o establecidos para estudiar, evaluar, o combatir la acción de las biopelículas, son escasos [2,3]. Sin embargo, si se han reportado algunos métodos para mitigar su efecto [4,7]. En este trabajo se presenta una revisión de información recopilada bibliográficamente, relacionada con algunos aspectos relevantes de las biopelículas y la corrosión microbiana en superficies metálicas, la electroquímica, estudios microscópicos y medidas preventivas.

Palabras clave: Biopelículas, Biocorrosión, Bioincrustaciones, SRB, EPS.

Biofilms and Biocorrosion: A Comprehensive Review of their Nature and Microscopy and Electrochemical Techniques for their Study.

ABSTRACT

The damage caused by corrosion in metallic materials is a problem that produces substantial economic and environmental costs. According to the World Bank, the global annual GDP (Gross Domestic Product) in corrosion costs was approximately 96.1 trillion US dollars for 2021, about 20% are due to the corrosion produced by the presence of bacteria, however there are no statistics related to environmental damages produced by this problem [1]. Microbial corrosion activity on metallic surfaces, cannot be classified as a corrosion type, but a process or mechanisms that can influence, accelerate and even initiate it, regardless the type of corrosion generated. The only necessary condition to initiate or accelerate the microbial corrosion on a metallic surface is the growth of biofilms. Biofilms are very complex systems, due to the large amount and types of microorganisms that can grow in it, the metabolic activities that can be developed, and the chemical products, which can attack the metallic materials, causing great deterioration. Due to the complex nature of these processes, specific norms, procedures and methodologies of operation, patented or established to study, evaluate or fight the action of biofilms are scarce [2,3]. However, some industrial methods have being reported to mitigate their effects [4-7]. In this work it is presented an information review compiled by bibliographic search related to some relevant aspects about biofilms and microbial corrosion, electrochemistry, microscopic studies and preventive actions.

Key words: Biofilms, Biocorrosion, Biofouling, SRB, EPS.

¿Qué son las biopelículas y cómo se desarrollan?

De acuerdo a estimaciones globales entre 40 y 80% de las bacterias viven en biopelículas [8]. El descubrimiento de las biopelículas se atribuye al científico neerlandés Antonie van Leeuwenhoek, conocido como el padre de la microbiología, entre los años 1676 y 1683 quien destacó por ser el primero en realizar observaciones y descubrimientos con microscopios. Leeuwenhoek documentó que en sus dientes se formaban unos gruesos depósitos en los que habitaban diferentes tipos de bacterias, o “animáculos”, como él los llamó (Figura 1) [9]. Pero no fue hasta 1978 que Costerton sugirió el término de “biopelículas” y las definió como “una comunidad estructurada de células bacterianas encerradas en una matriz polimérica auto-producida”. Desde ese momento fue reconocida por la comunidad científica la existencia de las mismas, iniciándose su estudio y los problemas que pueden acarrear en materiales metálicos [10]. Para muchos microbios, la formación de biopelículas es una forma de proteger su comunidad de los factores ambientales que puedan de alguna manera alterarlas, además de facilitar la

interacción entre miembros de la comunidad, y la captura de recursos. Están conformadas por una comunidad compleja de microorganismos que pueden incluir cualquier tipo de bacterias y arqueobacterias, así como eucariotas unicelulares como es el caso de amibas, flagelos, diatomeas y algas [11]. En esta comunidad especializada y heterogénea, los microorganismos se encuentran estructurados de forma que originan nichos fisiológicos específicos en el sustrato. Las células sobreviven envueltas en una matriz extracelular que ellas mismas han formado, la cual está constituida por una compleja mezcla de biomoléculas altamente polares que incluyen proteínas, exopolisacáridos (EPS), ácidos nucleicos, lípidos y un 97% de agua [11]. En dicha matriz, los microorganismos se encuentran interactuando en un ambiente ideal, protegidos, con suficientes nutrientes y a condiciones favorables de agua y temperatura. Las biopelículas son consideradas en sí una estrategia adaptativa de los microorganismos, que les aporta ventajas importantes, los protege de la acción de agentes adversos, incrementa la disponibilidad de nutrientes para su crecimiento, facilita el aprovechamiento

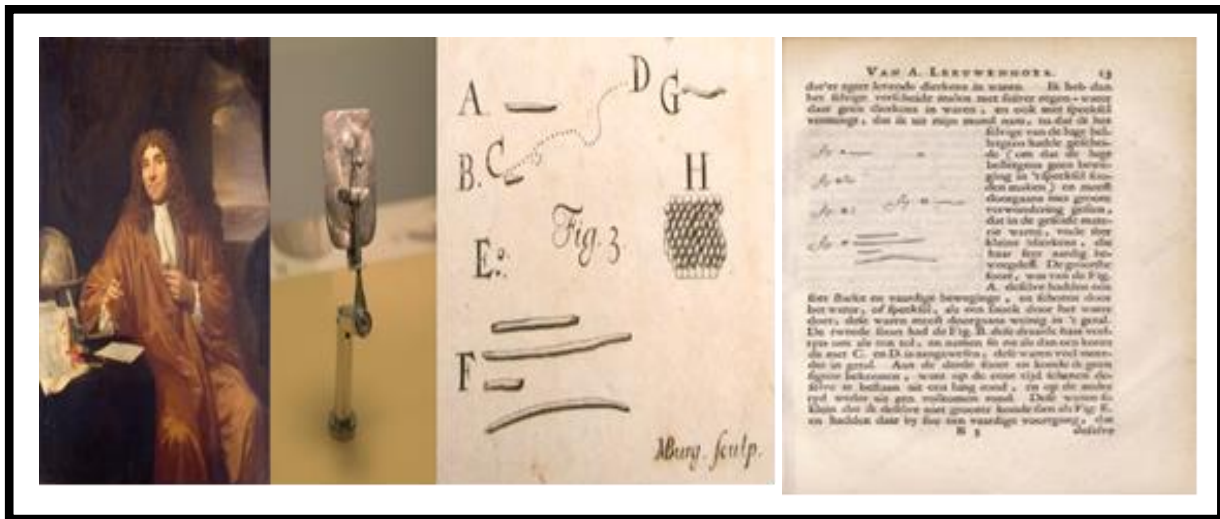


Figura 1. Izquierda: Retrato de Anton Van Leewenhok, fotografía del microscopio por él mismo fabricado y dibujos de las bacterias que observó del sarro de sus dientes con ese microscopio, a las que llamó “animáculos”. Derecha: Carta enviada por él a Francis William Aston escrita el 17 de septiembre de 1683, describiendo su descubrimiento.

del agua, evitando la deshidratación y posibilita la transmisión de material genético (ADN), incrementando la capacidad de supervivencia. En pocos minutos, las bacterias libres, encontrando ya acondicionada la superficie del sustrato, forman con ella una unión. Si ésta última se mantiene suficiente tiempo, aparecen nuevas estructuras químicas y físicas, haciéndola permanente e irreversible. Algunas especies no podrán acoplarse a la superficie pero pueden anclarse entre ellas en la matriz o directamente a colonias previamente formadas. Con la ayuda de un sistema de comunicación célula a célula, existe moléculas que producen pequeñas señales que median y promueven la colonización [11].

El desarrollo de las biopelículas se lleva a cabo en cinco fases, como se muestra en la Figura 2; 1) Atracción: los microorganismos son atraídos a la superficie en estado planctónico; 2) Adhesión y co-adhesión: esta se lleva a cabo cuando los propios microorganismos producen las exopolímeros (EPS) que, además de facilitarles la adhesión, les sirven de protección contra elementos externos. Proteínas asociadas a la superficie y otros factores estarían involucradas en la formación de biopelículas durante la fase inicial de acoplamiento. La adhesión a un sustrato puede ser activa, llevada a cabo por flagelos pili adhesivos, o pasiva desarrollada por efecto de la gravedad, difusión y

dinámica de fluidos; 3) Agregación: a los primeros microorganismos adheridos se unen más células microbianas; 4) Maduración: los microorganismos comienzan a multiplicarse y se aumenta la producción de EPS con lo que la biopelícula comienza a aumentar. Además, a través y alrededor de las biopelículas, se forman canales de agua los cuales sirven para traer nutrientes al interior y eliminar productos de desechos metabólico, desarrollándose procesos sinérgicos entre diferentes grupos y especies bacterianas. En esta fase, los microorganismos cambian morfológica y metabólicamente; 5) Disgregación: en ésta, las células microbianas se desprenden de la biopelícula inicial e inician la formación de otra matriz en una nueva superficie [12].

Química de las biopelículas y su influencia en la corrosión

Gaines en 1910 fue quien observó y documentó por primera vez la influencia de microorganismos en la corrosión en superficies metálicas [13]. Sin embargo, no fue hasta el año 1934 con un trabajo publicado por Von Wolzogen Kühr y van der Vlugt [14], sobre la grafitización de hierro fundido en suelos en condiciones anaeróbicas, que comenzó la investigación en este campo, y ya para los años 1970 se reconoció la biocorrosión a nivel industrial.

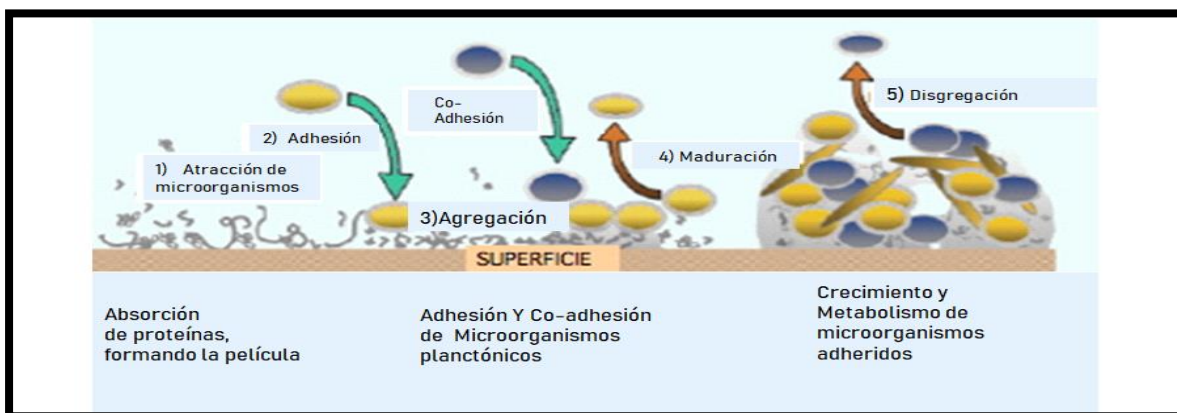


Figura 2. Representación de las fases de formación de una película sobre una superficie de un material que sirve de sustrato a los microorganismos.

Los microorganismos crecen sobre superficies llevando a cabo reacciones metabólicas donde los productos de estas reacciones alteran las características del sustrato donde crecen. Cuando la actividad microbiana se desarrolla en la interfaz material-medio, se generan procesos electroquímicos que deterioran localmente el material, el fenómeno se conoce con varios nombres: Biocorrosión, Corrosión biológica, Corrosión Microbiana, o Corrosión Influenciada por Microorganismos. Es muy importante entender que la corrosión influenciada por microorganismos, no es en realidad un tipo de corrosión, sino un proceso que puede influenciar, iniciar y/o acelerar la corrosión, incluyendo corrosión uniforme, picadura, corrosión por crevice, intergranular, desaleación, por estrés, etc. De hecho, si no se es familiar con el fenómeno de biocorrosión, algunos problemas de corrosión pueden ser mal diagnosticados. Un indicador predominante de la corrosión influenciada por microorganismos es una corrosión localizada acelerada. Este proceso puede afectar numerosos sistemas, y puede existir, normalmente en todos los ambientes donde exista agua, aunque se ha reportado que puede existir también en sistemas de almacenamiento de combustible y lubricación.

Es a comienzo de los años 1980s, cuando comienza a tomar importancia el estudio de la biocorrosión y los problemas que esta genera en la degradación de sistemas. En resumen, una vez que los microorganismos forman la biopelícula sobre la superficie de un material, se crea un microambiente que propicia reacciones electroquímicas, generando un incremento en las velocidades de corrosión de los sustratos metálicos donde se desarrollan.

Cuando el crecimiento de microorganismos sésiles en las biopelículas no se trata, estas poblaciones fomentan celdas electroquímicas, dada la formación de áreas anódicas y catódicas, productos de corrosión, diferenciales de aireación y diferenciales de pH. En estas condiciones, el

deterioro superficial que se produce puede llegar a niveles severos. Por otro lado, los exopolímeros que producen los mismos microorganismos en las biopelículas impedirían la difusión de solutos y gases permitiendo el desarrollo de comunidades microbianas altamente estructuradas conformadas por diferentes especies.

Esas varias especies son capaces de llevar a cabo colectivamente el mismo efecto que puede alcanzarse con una simple especie actuando sola a causa de un efecto sinérgico. Esta condición de crecimiento microbiano es un prerequisite importante para la biocorrosión. Las bacterias que participan en la corrosión por microorganismos se han clasificado en bacterias productoras de ácido (BPA), sulfato reductoras (BSR) sulfato-oxidantes (BSO), manganeso-oxidantes (BMO), ferroxidantes formadoras de limo [10]. En las biopelículas, la corrosión puede desarrollarse de manera activa y pasiva. Al estar presente en ésta bacterias aeróbicas y anaeróbicas, se genera un marcado diferencial en el consumo de O₂, estimulando la formación de celdas diferenciales de aireación o concentración diferencial de O₂, favoreciendo el ataque activo. Por otro lado, se crean también oclusiones en la superficie de los metales, donde las condiciones de calor o flujo cambian, causando un suministro desigual de aire en la superficie del metal. Este nivel desigual de oxígeno crea también sitios anódicos y catódicos en la superficie, lo que genera también un ataque pasivo. Cada variedad de bacteria es responsable de causar una reacción que influye en el proceso de mayoritariamente de naturaleza catódica formando celdas electroquímicas en las superficies metálicas [10]. El mecanismo de corrosión por las bacterias sulfato reductoras ha sido bastante estudiado y se ha explicado a partir de la Teoría de Depolarización como se representa en forma esquematizada en los diagramas mostrados en las figuras 3 y 4 [6-7,11]. En una parte de la biopelícula más interna, adherida a la superficie metálica, se forma una zona anaeróbica que tiene un

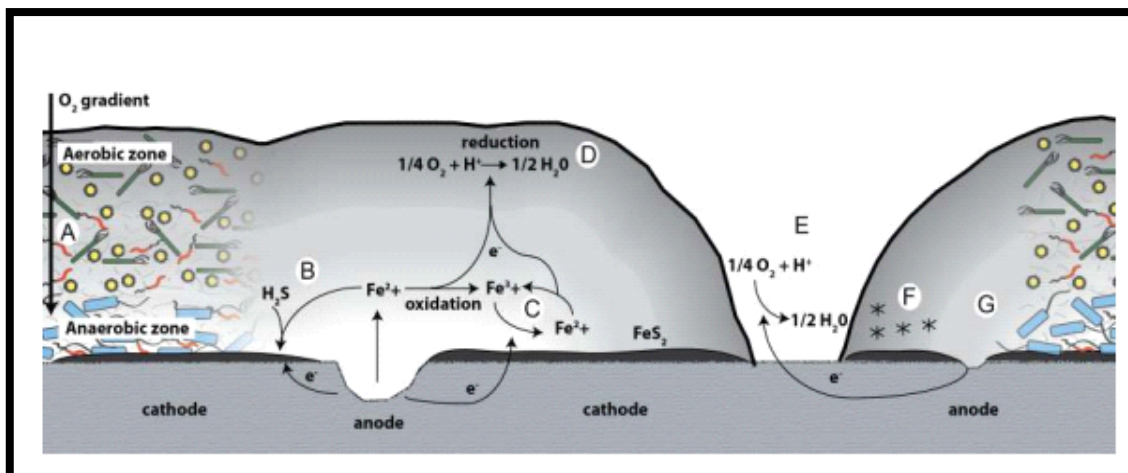
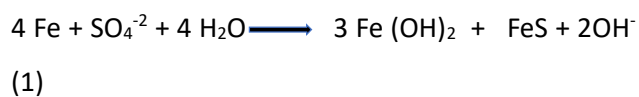


Figura 3. Mecanismo propuesto para explicar la corrosión influenciada por microorganismos en presencia de bacterias sulfato reductoras. El mecanismo considera los siguientes pasos: Creación de zonas anaeróbicas; Concentración de químicos corrosivos; Concentración de iones Fe; Conducción de e⁻ fuera de la superficie; Creación de celdas de O₂ diferenciales; Enlazado de promotores de corrosión; Rompimiento de la capa pasiva [6,7,11].

comportamiento catódico, en donde la acción metabólica de las bacterias convierte los sulfatos en sulfuros y luego en H₂S proveniente de la actividad metabólica de las especies bacterianas y H₂SO₄. El H₂S formado por las bacterias se desplaza hacia las zonas aeróbicas del sistema, reaccionando con el Fe, oxidándolo a Fe⁺², conllevando a la formación de FeS, que forma una capa pasiva sobre la superficie metálica de la aleación de acero. Esta capa de FeS pasiva el metal, sin embargo, es muy frágil y con el tiempo, ésta se rompe, dejando de nuevo la superficie metálica, expuesta a la acción del H₂S, formándose de nuevo la especie FeS sobre la superficie. El hidrógeno que se libera en la reacción del Fe con el H₂S se desplaza a las partes aeróbicas de la biopelícula y se combina con O₂ para formar moléculas de H₂O. El suministro desigual de aire en la superficie del metal, da como resultado la formación de una celda de concentración de oxígeno. Este nivel desigual de oxígeno crea sitios anódicos y catódicos en la celda de corrosión. en donde el oxígeno está presente a una cierta concentración [9-11]. El proceso involucrado y explicado por la Teoría de Polarización puede resumirse en las ecuaciones (1) a (7):

Reacción en el metal:



Anódica

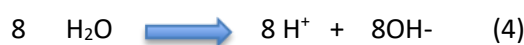


Catódica



} Celda electroquímica

Reacción en la solución



Siendo los productos de corrosión:



La naturaleza de la corrosión influenciada por microorganismos presenta la misma electroquímica que la que envuelve el proceso corrosivo tradicional. Sin embargo, la contribución de los microorganismos en el proceso proporciona un número de características únicas, siendo la más importante, la modificación de la interfaz metal-solución por la formación de biopelículas. La presencia de diferentes microcolonias de especies incrementa el espesor y, por ende, cambian las condiciones electroquímicas del sistema metal-biopelícula, el cual produce un desplazamiento del valor del potencial a valores más negativos e incrementa la susceptibilidad del metal hacia la picadura [12-15]. Este sería el caso de la corrosión inducida microbiológicamente en una tubería metálica que se lleva a cabo por la acción de un gas ácido, que genera un tipo de corrosión altamente localizada. Una de las características de este tipo de ataque es la formación de picaduras elongadas que hacen túneles en el espécimen, generalmente de una manera irregular. Este patrón de corrosión por picadura se va a observar frecuentemente localizada cerca de la interfaz gas/agua. Cuando la tubería se deja por un período de tiempo prolongado en condición estática, se promueve el crecimiento bacteriano y un ataque altamente localizado [15].

A continuación, se presenta una descripción detallada del proceso que llevan a cabo el tipo de bacterias que, han sido reportadas en la bibliografía de producir biocorrosión en esas aleaciones [15-18]. En la Tabla 1, se presenta un resumen de los cuatro tipos de bacterias y, en la Tabla 2, se especifican los tipos bacterias identificadas y las condiciones de pH y temperatura a las que se han encontrado, obtenidas de análisis de muestras de biopelículas tomadas en algunos sistemas metálicos:

A) Bacterias productoras de ácido (BPA)/ bacterias sulfato reductoras (BSR): son dos tipos de bacteria, anaeróbicas que funcionan en conjunto unas con otras. Las primeras

generan H_2S y pueden co-existir en las biopelículas en consorcios capaces de afectar los procesos metabólicos, ya que los ácidos generados por las BPA proporcionan energía y electrones empleados en el metabolismo energético, y son fuentes de energía para las sulfato-reductoras, las cuales, como se describió más arriba, uno de los mecanismos en los que actúan es en la metabolización de los sulfatos llegando a generar precipitaciones de sulfuros como se muestra en la Figura 4 y en la ecuación (6). Son responsables de la corrosión anaeróbica del acero que está en contacto con agua y materiales orgánicos. En general la corrosión anaeróbica es la causa de una tasa de oxidación mayor a 10 veces comparado con la corrosión atmosférica.

B) Bacterias sulfato-oxidantes (BSO) y bacterias manganeso-oxidantes (BMO): en el caso de las BSO, oxidan productos de azufre generados por las bacterias sulfato-reductoras, disminuyendo el pH del medio o produciendo H_2SO_4 generando el proceso corrosivo y en el caso de las manganeso-oxidantes en aceros inoxidable. El mecanismo de las Mn oxidantes, se basa en la habilidad de estas bacterias para extraer selectivamente Mn^{+2} y biomineralizar los óxidos de Mn a estados de oxidación más altos, que genera un cambio de potencial a la dirección anódica, llamado efecto ennoblecimiento (Figura 5).

C) Bacterias ferroxidantes: desarrollan depósitos de Fe (hematita y goetita) como producto de su actividad metabólica. Su naturaleza es, en general aeróbica, pero se encuentran también en sistemas con menos de 0.5 ppm de O_2 . En la superficie del metal, y en un punto no protegido o alterado de la superficie, la cual está en contacto con el agua, ocurre un ataque del metal que da lugar a la formación de hidróxido ferroso $Fe(OH)_2$ (ecuación 7) transformándose rápidamente en hidróxido férrico hidratado $Fe(OH)_3 \cdot XH_2O$. También gracias al O_2 y el gas carbónico disuelto (CO_2), se transforman en carbonato

Tabla 1. Tipos de bacterias y electroquímica del proceso de corrosión influenciada por microorganismos

Bacteria	Respiración celular	Productos metabólicos	Electroquímica del proceso	Material
Productoras de ácidos (BPA): Acidithiobacillu, etc.	Anaeróbica	Maleatos, formatos, alcoholes (C ₁ -C ₄) ácidos	Formación de celdas de O ₂ <u>Reacción catódica:</u> Formación de H ₂ O <u>Reacción anódica</u> oxidación de maleatos, formatos y alcoholes a ácidos carboxílicos	Aceros, aceros al carbono Aleaciones de Al-Mg
Sulfato-reductoras (BSR) Sulfato-oxidantes (BSO) Desulfovibrio Campylobacter Pseudomonas	Anaeróbica	Sulfatos/ Sulfuros	Formación de celdas de O ₂ <u>Reacción catódica:</u> Formación de H ₂ <u>Reacción anódica</u> oxidación de Fe, Ni, Cu	Aceros y aceros al carbono Aleaciones Ni-Cu
Manganeso Reductoras (BMR) Leptothrix discophora SS-1., etc.	Anaeróbica	MnO _x	Posibles mecanismos: Directos: Enzimas oxidantes de Mn, compuestos de la pared celular, proteínas, etc. Indirectos: Producción de O ₂ , liberación de amonio, consumo de ácidos, radical hidroxilo, etc.	Aceros inoxidables
Ferroxidantes A-Ferroxidans etc.	Aeróbica	Óxidos de Fe Hematita, Goetita	Formación de celdas de O ₂ <u>Reacción catódica:</u> Formación de H ₂ <u>Reacción anódica</u> oxidación de Fe ⁰	Aceros, aceros al carbono
Productoras limo Pseudomonas Aeruginosas	Aeróbica/ Anaeróbica	Polisacáridos	Formación de celdas de O ₂ diferenciales	Aceros y aceros al carbono

Tabla 2. Bacterias identificadas en diferentes condiciones y sistemas metálicos

Genero de Bacteria Identificada	Tipo de Bacteria	Residuo	pH	T °C	Sistema metálico afectado
Desulfovibrio	BSR	H ₂ S	4-8	10-40	Hierro, aceros, Aceros inoxidables, Al, Zn, aleaciones de Cu
Desulfo Tomaculum Gram +	BSR	H ₂ S	6-8	10-40	Hierro, aceros, Aceros inoxidables
Desulfomona	BSR	H ₂ S	6-8	10-40	Hierro, aceros
Thiobacilus Thioxidans	BSR	H ₂ SO ₄	0.5-8	10-40	Hierro, aceros y Aleaciones de Cu
Thiobacilus Ferroxidans	Ferrobacteria (oxidante de Fe)	H ₂ SO ₄	1-7	10-40	Hierro y aceros
Gallionella Ferruginea	Ferrobacteria (oxidante de Fe)	Óxidos de Fe	7-10	20-40	Hierro y aceros
Sphaerotilus Gram –	Ferrobacteria (oxidante de Fe)	Óxidos de Fe	7-10	20-40	Hierro y aceros

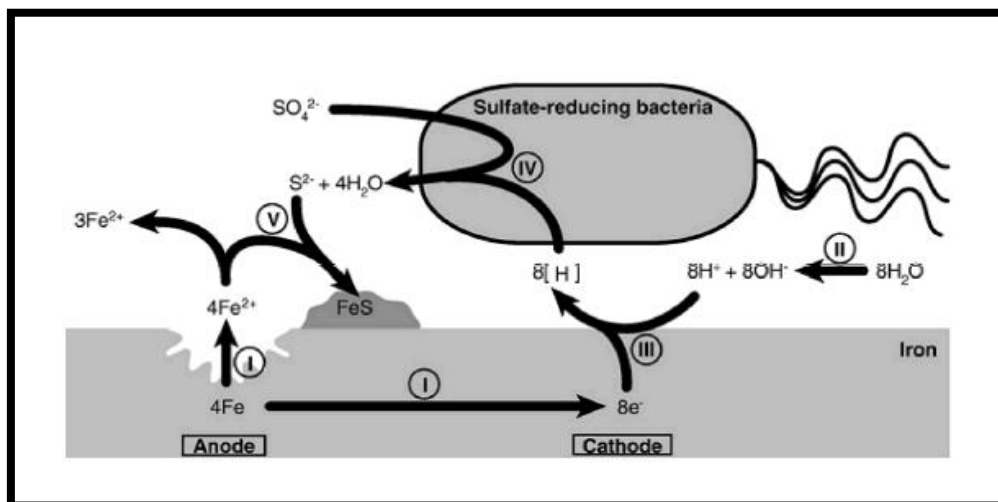


Figura 4. Mecanismo con el que los autores muestran la interacción de microorganismos en biopelículas formadas sobre una superficie metálica, explicado mediante la Teoría de Despolarización Catódica [6-14].

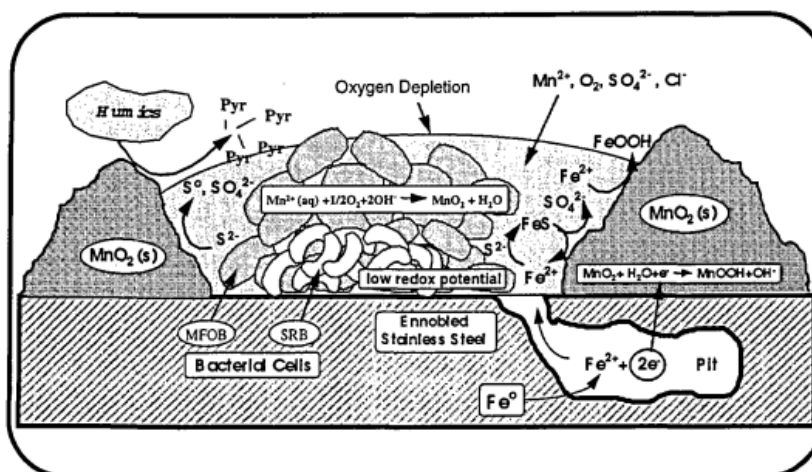


Figura 5. Mecanismo propuesto por los autores para explicar la corrosión en aceros inoxidable en presencia de las bacterias manganoso reductoras y sulfato reductoras. La secuencia de actuación de las BSR entre el ensuciamiento generado por los depósitos del manganoso, intensifica el efecto corrosivo del MnO2 disminuyendo el potencial redox, así como las interacciones químicas y físicas entre el MnO2 y las BSR, promocionan la acción de las BSR [14-15].

férrico $Fe_2(CO_3)_3$. En un segundo mecanismo, las ferroxidantes en áreas de baja concentración de O_2 , convierten el ión ferroso Fe^{2+} en férrico Fe^{3+} , el cual precipita como hidróxido férrico. La presencia de bacterias ferroxidantes, donde el metal ha sufrido el ataque, ocasionará la movilización de iones ferrosos y su transformación en sales férricas en densas masas de herrumbre que contienen los cuerpos bacterianos,

siguiendo la disolución ininterrumpida del metal. Este tipo de bacterias contribuyen también a la formación de lodos.

D) Bacterias formadoras de limo: en la clasificación se incluyen también una variedad de microorganismos que en común producen exopolímeros, formados fundamentalmente por polisacáridos que se adhieren a los sustratos, causan ensuciamiento y producen condiciones

adecuadas para el desarrollo de las bacterias corrosivas anaeróbicas. Se caracterizan por producir masas gelatinosas floculantes, mucoides, causan ensuciamiento, producen gas y crean condiciones adecuadas para el desarrollo de las colonias bacterianas que inducen la biocorrosión. Como las bacterias formadoras de limo son aeróbicas estas consumen O_2 , estimulando la formación de celdas de aireación de O_2 diferenciales, con ataque activo, pero formando también una masa de oclusión que cambia la conducción de calor.

Microscopia electrónica en el estudio de la biocorrosión

La microscopia electrónica empleada en estudios de biocorrosión en superficies metálicas, proporciona importante información concerniente al desarrollo de las biopelículas en diferentes ambientes y condiciones. Como ejemplo se presentan a continuación algunos estudios que muestran la importancia de la microscopia electrónica en el estudio de la biocorrosión.

La figura 6 muestra una microscopia electrónica de barrido del crecimiento de biopelículas en acero al carbono S150, luego de 15 días de incubación de una bacteria sulfato reductora, y se compara con una muestra con la misma cepa bacteriana de la BSR, enriquecida con un nanocompuesto de quitosano-ZnO. En las imágenes se observa el crecimiento de biopelículas en la superficie de la muestra sin el nanocompuesto, mientras en la muestra con el nanocompuesto, no se observa desarrollo bacteriano [19].

Por otra parte, en la Figura 7 se muestra una las picaduras producidas por la biocorrosión y de la superficie luego de removidas las biopelículas, en un acero 1018 a 7 días de incubación a 37 °C en un medio de cultivo de una cepa obtenida de un campo petrolero [20].

La figura 8 muestra resultados de estudios de morfología por micrografía SEM de un acero al carbono ST37 con una cepa de bacillus megaterium PI12 cultivada en medio

estéril para estudiar el efecto sobre la superficie del acero de un combustible obtenido del aceite de palma y de una mezcla de éste con biodiesel, a diferentes proporciones, y el crecimiento bacteriano a 21 días de exposición. A 0% de biodiesel no se observa crecimiento bacteriano (sin biopelículas) (A), mientras que para las muestras con biodiesel la formación de biopelículas fue evidenciada, con un incremento en el desarrollo de biopelículas y en su espesor, con la concentración de biodiesel [21].

Técnicas electroquímicas empleadas en la evaluación y estudio de la corrosión influenciada por microorganismos

Dentro de las técnicas electroquímicas convencionales empleadas en la evaluación de la corrosión están aquellas basadas en medidas a corriente directa (DC), que incluyen medidas de potencial de circuito abierto (OCP), la resistencia a la polarización lineal y las medidas de polarización potenciodinámica así como también las técnicas basadas en corriente alterna (AC), como la impedancia electroquímica y el análisis de ruido electroquímico.

El potencial de circuito abierto OCP, es el voltaje entre el electrodo de trabajo (WE) que sería el material metálico a estudiar, y el electrodo de referencia, el cual es medido en condiciones pasivas, empleando un potenciostato, sin una fuente externa de voltaje. El valor de este potencial nos indica la probabilidad del material metálico de ser reducido u oxidado. La resistencia a la polarización R_p , es la medida de resistencia a la corrosión y se puede calcular tomando la inversa de la pendiente de la curva de potencial actual respecto al potencial de circuito abierto (OCP). Bajos valores de R_p indican poca resistencia a la corrosión de una superficie metálica. Durante la polarización de un electrodo, la magnitud de la corriente está controlada por la cinética de reacción y la difusión de reactivos hacia y desde el electrodo.

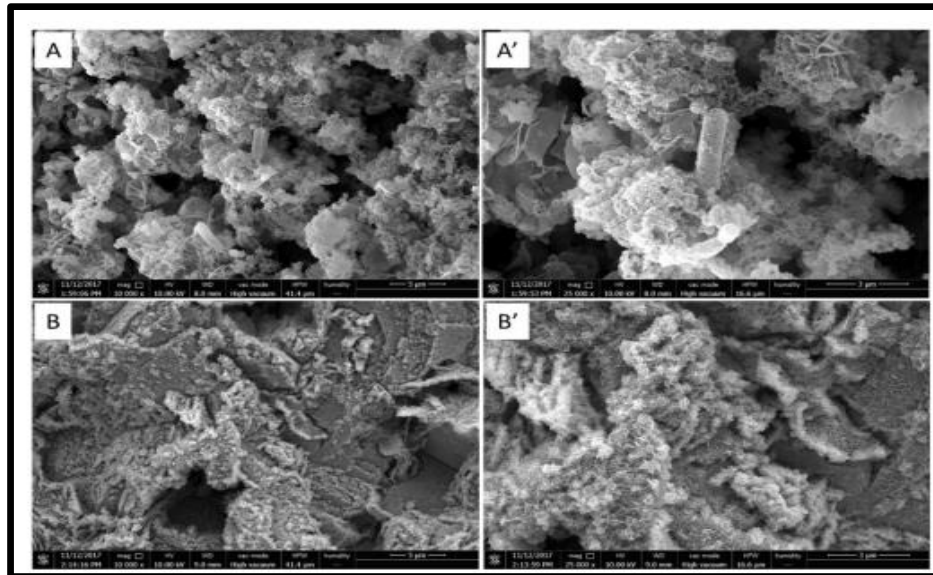


Figura 6. Imagen SEM de una biopelícula de bacteria sulfato reductora, crecida sobre un acero al carbono S150 luego de 15 días de incubación. A) Medio enriquecido con BSR y B) Medio enriquecido con BSR y un nanocompuesto de quitosano-ZnO [19]

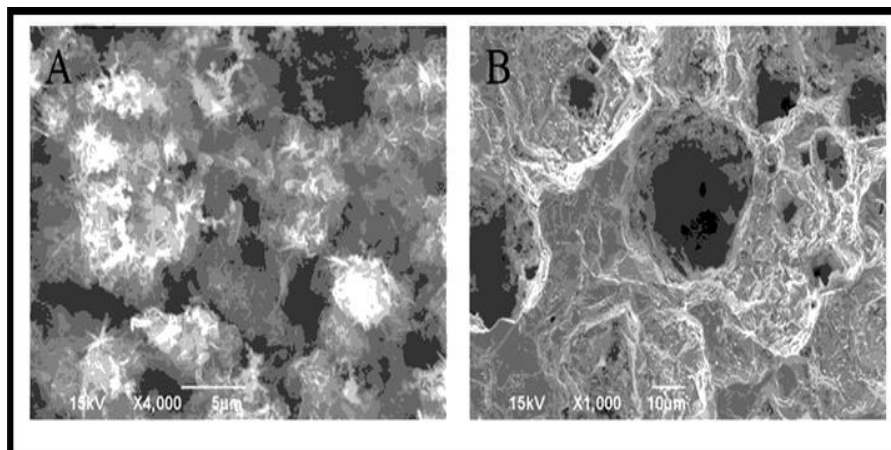


Figura 7. Imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de biopelículas (A) y picaduras por corrosión (B) luego de la remoción de biopelículas en un acero al carbono C1018 después de 7 días de incubación a 37 °C en un medio de cultivo con una cepa obtenida de un campo petrolero [20]

Las curvas de polarización potenciodinámica usan un rango de voltaje DC que es aplicado al electrodo de trabajo, usualmente entre +/- 200 mV vs. Potencial de circuito abierto OCP. Estas se representan en el diagrama de Tafel, que es una relación gráfica entre la corriente generada en una celda electroquímica y el potencial del electrodo, y consta de dos líneas logarítmicas divergentes que representan las corrientes anódica y catódica. De las curvas

de Tafel, obtenidas de las medidas de polarización potenciodinámica, se obtiene la densidad de corriente (I), empleando la ecuación de Butler-Volmer (ecuación 8), que relaciona la corriente con el potencial para las reacciones anódicas y catódicas que se desarrollan, que en el caso del mecanismo de corrosión microbiana están representadas en las ecuaciones 2 y 3, que se derivan de la Teoría de Polarización. En el caso de la corrosión influenciada por

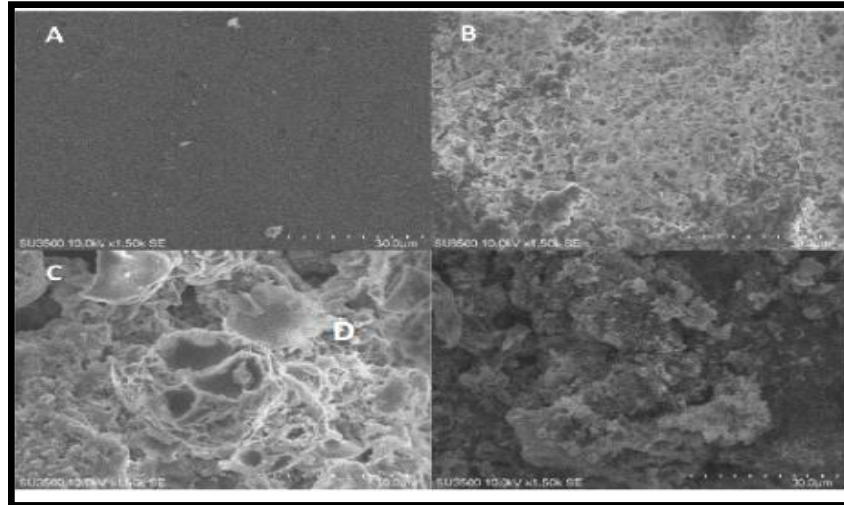


Figura 8. Estudios de morfología por micrografía SEM de un acero al carbono ST37 con una cepa de *Bacillus megaterium* PI12 cultivada en medio estéril para estudiar el efecto sobre la superficie del acero de un combustible obtenido del aceite de palma y de una mezcla de éste con biodiesel en el crecimiento bacteriano, a diferentes proporciones A) 0% diesel; B) 20% diesel; C) 30% diésel; D) 100% diésel a 21 días de exposición [21].

microorganismos, esta densidad de corriente se relaciona con la transferencia electrónica entre la superficie metálica (ánodo dador de electrones) y un aceptor de electrones que toma los electrones liberados por la superficie metálica en la cual está formada la biopelícula [22-26].

$$I = I_a + I_c = ICORR(e^{2.3(E-E_{oc})/\beta_a})$$

$$- e^{(-2.3(E-E_{oc})/\beta_c)} \quad (8)$$

Las biopelículas son sistemas más complicados, por lo que la tendencia no siempre predice en forma correcta el desenvolvimiento real de la superficie metálica frente a la corrosión. En presencia de biopelículas, tanto la diferencia de potencial, como la densidad de corriente en el electrodo, pueden diferir en varios órdenes de magnitud, si hay un cambio en las condiciones del proceso de corrosión. Medidas continuas de polarización potenciodinámica en cualquiera dirección, en presencia de biopelículas, tiende a inducir grandes desviaciones en potencial y corrientes de corrosión. En estas condiciones, la transferencia electrónica se lleva a cabo usualmente más rápido alcanzando velozmente el citoplasma de la célula. Por esta

razón, el análisis por Tafel solo puede ser usado para comparar en forma cualitativa la tendencia a la corrosión [25].

Algunos autores han obtenido resultados satisfactorios, en el estudio de la corrosión en superficies metálicas en presencia de biopelículas, modificando la técnica tradicional de obtención de las curvas de Tafel, que ha permitido determinar los mecanismos de corrosión en la superficie metálica. La técnica específica está basada en el uso de dos electrodos de trabajo (WE) idénticos, los cuales están expuestos al mismo ambiente y el procedimiento es el siguiente [24,26]:

- 1) Se polariza uno de los electrodos de trabajo idénticos respecto al otro, lo cual se realiza aplicándole una corriente a un valor específico, estableciendo una diferencia de potencial entre ellos.
- 2) La diferencia de potencial entre los electrodos idénticos es monitoreada continuamente a intervalos determinados (típicamente una vez al día).

- 3) La corriente requerida para polarizar el electrodo es también monitoreada continuamente. De esta forma, se determina una línea de base de potencial entre los dos electrodos, así como la corriente necesaria para polarizar los electrodos.
- 4) Se monitorea la desviación de esta línea de base y se asume que dicha desviación es debida a la formación de la biopelícula sobre los electrodos.

Sin embargo, a pesar de que esta técnica ofrece más ventajas en el estudio de la biocorrosión, los cambios en el potencial o corriente medidos por esta técnica pudieran ser debidos a diversas razones, incluyendo la formación de películas superficiales en el metal, deposición de sólidos formados, además de la formación de biopelículas, así que esta técnica solo puede ser considerada solo como un indicio cualitativo de una actividad microbiana potencial [25].

Por otra parte, tomando en cuenta la naturaleza de la corrosión microbiana, las técnicas AC (Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIS) y Análisis de Ruido Electroquímico (ENA), permiten obtener valores de conductividad, resistencia y capacitancia. Estas técnicas ofrecen algunas ventajas sobre las técnicas DC cuando se estudian biopelículas sobre superficies metálicas [25,27-30]. Estas ventajas se sustentan en que las técnicas AC ofrecen una mayor sensibilidad, debido a que permiten detectar pequeños cambios en impedancia y corriente. Por otro lado, proveen una alta resolución, lo que hace posible que se puedan distinguir sutiles cambios en las propiedades de las biopelículas. Las respuestas de estas técnicas de conductividad, capacitancia y resistencia, tienen una dependencia de la frecuencia a la que se realizan las medidas, por lo que se pueden investigar fenómenos que ocurren a diferentes frecuencias, en la superficie donde se desarrolla las biopelículas, como transferencia de cargas, difusión y adsorción.

Las técnicas electroquímicas AC ya descritas, se basan en la generación de una pequeña perturbación causada por un potencial aplicado. A diferencia de la mayoría de las técnicas DC empleadas para estudiar corrosión metálica, las técnicas AC se consideran no destructivas, porque no alteran la superficie de las biopelículas cuando se lleva a cabo la medida. Permiten obtener información tanto del espesor, la porosidad, así como de las propiedades eléctricas de biopelículas. También sirven para hacer medidas más localizadas, lo que permite obtener información acerca de la heterogeneidad y los gradientes generados por la presencia de estas.

Sin embargo, a pesar de las ventajas que ofrecen las técnicas AC, algunos autores señalan que siempre se debe ser cauteloso con la interpretación de los resultados obtenidos, con todas las técnicas electroquímicas, en especial con la técnica de espectroscopía de impedancia electroquímica [25,27-29]. Otro dato que resaltan unos autores es que, la presencia de biopelículas no genera una curva de tipo campana gaussiana en las curvas Body de las medidas de impedancia electroquímica, en el formato de ángulo de fase. Sin embargo, las biopelículas si impactan en los valores de la transferencia de carga y la capacitancia de la doble capa, teniendo una influencia significativa en la transferencia de carga faradaica, comprobando que una capa de EPS concentrada se comporta como un revestimiento sintético polimérico [25].

Biocorrosión en sistemas industriales:

Las consecuencias de la biocorrosión en la industria se pueden medir en la pérdida de masa y deterioro de sus propiedades de un material, creando un problema económico significativo donde la presencia de microorganismos acelera el proceso normal de deterioro. Particularmente, la formación de biopelículas microbianas en las superficies metálicas en sistemas industriales, puede causar severos daños por corrosión con costos

significativos del punto de vista sanitario, económico y ambiental. Dentro de las industrias más afectadas están las de combustibles fósiles, como la petrolera, la gasífera, y otros como el biodiesel, las empresas navieras y en las de distribución de agua potable. Un gran número de publicaciones en el área de biocorrosión, están relacionadas con ese tipo de industrias, donde se reportan el efecto que generan la presencia de bacterias en el deterioro de los materiales [31-48].

La corrosión aeróbica es la que ha sido más estudiada, lo que se evidencia por el número de patentes, publicaciones científicas y las organizaciones que norman y estandarizan métodos de evaluación de la corrosión y las propias industrias afectadas. Sin embargo, la corrosión microbiana, la cual es anaeróbica en la gran mayoría de los casos, es responsable de entre un 50 y un 75% del deterioro y fallas en las tuberías, así como también en los pozos petroleros [38]. Este tipo de corrosión ocurre en sistemas donde se encuentra agua estancada o donde el agua fluye en un patrón laminar, favoreciendo la formación de depósitos y zonas anaeróbicas, con el crecimiento de microorganismos formando biopelículas en las superficies metálicas de los sistemas [38]. Particularmente, en los sistemas de distribución de agua, las biopelículas representan un factor de riesgo, no solo porque promueve la corrosión en las tuberías que forman el sistema de distribución, sino como potencial fuente de contaminación bacteriana lo cual puede desencadenar un problema de salud pública. En esos sistemas, las fluctuaciones en temperatura afectan no solo la adhesión de la bacteria a la superficie del sustrato, sino también la velocidad de crecimiento de las biopelículas, donde el efecto de éstas varía según el tipo de bacteria formadora de biopelículas [39]. Por otra parte, también se ha reportado que a bajo regímenes de flujo turbulento, en los sistemas de distribución de agua potable se forman biopelículas más delgadas y más densas, en comparación a

biopelículas más porosas y de menos poder de adherencia en regímenes de bajo flujo [31].

Conclusiones

En lo referente a la corrosión por microorganismos, a pesar de que se ha avanzado bastante en el ámbito científico en el estudio y la comprensión del fenómeno de la biocorrosión y sus efectos, en especial, a partir de los años 1980s, se puede inferir que este mecanismo de corrosión no se considera aún un asunto de alta importancia, sobre todo en el ámbito industrial. El hecho que no existen metodologías normalizadas que puedan aplicarse, para la evaluación, prevención, y tratamiento o mitigación de la corrosión influenciada por microorganismos, como si existen para otros tipos de mecanismos de corrosión, implica que es un problema industrial sin resolver. Como dato a considerar, existen 330 normas estandarizadas disponibles en estándares internacionales (ASTM, ISO, NACE) para la evaluación, control y prevención de la corrosión, de las cuales solo 2 se relacionan con la corrosión microbiana. Para optimizar el estudio y mitigación de la biocorrosión, deben estar disponibles normas estandarizadas, sustentadas en ensayos de corrosión de laboratorio (ex-situ), tanto ensayos destructivos (gravimétricas), como ensayos no destructivos basados las técnicas electroquímicas DC y AC arriba explicadas, así como el uso de sondas o sensores electroquímicos que permitan el monitoreo de corrosión localizada (in-situ) [40-41].

En ciertos países, se está comenzando a implementar procedimientos para medir y combatir la biocorrosión, fundamentados en procedimientos empíricos de prevención y mitigación, en algunos casos puntuales, como en sistemas de distribución de aguas, y en industrias que requieren de almacenamiento de combustible, entre otras [4-7, 42-48]. Estos procedimientos empíricos estarían basados en vigilancia y tratamientos preliminares y

preventivos como: limpieza, selección apropiada del material, empleo de biocidas y/o revestimientos en partes internas de los sistemas, protección catódica en las partes externas, etc. Sin embargo, aún falta mucha investigación aplicada para lograr establecer procedimientos estándares. Para lograrlo, se requiere que los objetivos de la investigación en este tema, se orienten hacia el desarrollo de herramientas científicas y prácticas para su diagnóstico, estudios de la influencia de distintos parámetros, y tipos de sistemas superficie metálica-biopelículas, para lograr la implementación de estrategias efectivas y estandarizadas de evaluación, control y mitigación, monitoreo de la efectividad del método de mitigación, etc., según sea el caso (industria petrolera, gasífera, de biocombustible, alimentos, farmacéutica, etc.).

Entendiendo mejor la corrosión microbiana en los sistemas, se puede llegar a la obtención de nuevas y más eficientes estrategias de prevención y mitigación. Para ello se requiere una unión multidisciplinaria de diversos campos de investigación donde debe estar incluidos, entre otros, el campo de la electroquímica, de la corrosión, de las técnicas microscópicas de estudio, de la ingeniería, de la química microbiológica y molecular, etc.

Conflicto de Interés

El autor declara que no existe conflicto de interés

Referencias

- [1] Iannuzzi M. and Frankel G.S., "The carbon foot print of steel corrosion" (2022). *Materials Degradation*, 6, 101.
- [2] TM0106-2006. "Detection, testing and evaluation of microbiologically influenced corrosion MIC, on external surfaces of buried pipelines". *NACE International*.
- [3] TM0194-2004. "Field monitoring of bacterial growth in oil and gas systems". *NACE International*.

- [4] Collins, T., Patel, S. De Oro, C. "Are you customer concerned about microbiologically influenced corrosion (MIC)" (2023) (Blog) (Eoncoat) <https://eoncoat.com>.
- [5] Eckert R., Lee J., Skovhus T. "Controlling microbiologically influenced corrosion in pipelines" (2020) (Blog) <https://blogs.amp.org> (2023).
- [6] Hussain M. and Djavanroodi F., "Microbiologically influenced corrosion in oil and gas industries: A review" (2021). *International Journal of Corrosion and Scale Inhibition*.
- [7] Singh A. K. (2020). Mitigation of microbial induced corrosion, Ed. Springer Singapore. Microbially Induced Corrosion and its Mitigation, pp. 107-129. Springer Singapore Ed.
- [8] Flemming, H. C., and Wuerz, S. "Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms" (2019). *Nat. Rev. Microbiol.* 17, 247–260.
- [9] Harold C. and Slavkin D.S. "Biofilm, microbial ecology and Antoni van Leeuwenhoek" (1997). *The Journal of the American Dental Association*, vol. 128, issue 4, pp. 492-495.
- [10] Costerton J, P S Stewart , E P Greenberg.. "Bacterial biofilms: a common cause of persistent infection" (1999). *Science.*; 284: 1318-1322.
- [11] Flemming, H.C. "HC., Wingender, J., Szewzyk, U. Biofilms: an emergent form of bacterial life". *Nat Rev Microbiol* (2016) 14, pp. 563–575.
- [12] Crouzet ,M. , Caroline Le Senechal, Volker S Brözel, Patricia Costaglioli, Christophe Barthe, Marc Bonneau, Bertrand Garbay and Sebastien Vilain "Exploring early steps in biofilm formation: set-up of an experimental system for molecular studies" (2014). *Microbiology*, 14, 253.

- [13] Gaines RH. "Bacterial activity as a corrosive influence in the soil" (1910). *Ind Eng Chem* 2(4) pp.128–130.
- [14] Von Wolzogen Kühr, C.A.H.; Van der Vlugt, L.S. "Graphitization of Cast Iron as an Electrochemical Process in Anaerobic Soils" (1964); *Defense Technical Information Center: Fort Belvoir, VA, USA*.
- [15] Lane R. "Under the microscope: understanding, detecting and preventing microbiologically influenced corrosion" (2005), *Corrosion Costs* 5: 10-12, 33-38.
- [16] Mori, K., H. Tsurumaru and Harayama S.. "Iron corrosion activity of anaerobic hydrogen-consuming microorganisms isolated from oil facilities" (2010). *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 110(4): 426-430.
- [17] Lewandowski Z. and Beyenal H., Mechanisms of Microbially Influenced Corrosion (2009), Marine and Industrial Biofouling. Biofilms, (Vol 4), pp 35-64. Springer Series.
- [18] Kwan Hon Li, Matthew, Whitfield J.; Van Vliet K. the bugs: "Beat the Bugs: Roles of microbial biofilms in corrosion" (2013). *Corrosion Reviews* (3-6), pp. 73-84.
- [19] Pathah A. R.. "Chitosan based nanocomposite for the inhibition of sulphate reducing bacteria towards green biocides for microbial influenced corrosion". (2018). Qatar Foundation. Conference paper. DOI:10.5339/qfarc.2018.EEPP981.
- [20] Yingchao L., Anaero Dake Xub, Changfeng Chena, Xiaogang Li, Ru J. Dawei Zhang, Sande W., Fuhui Wang b Tingyue Guf. "Microbiologically Influenced Corrosion Mechanisms Interpreted Using Bioenergetics and Bioelectrochemistry: A Review" (2018). *Journal of Material Science and Technology*. Vol. 34 Issue 10, pp. 1713-1718.
- [21] Ramadani A.N., Arimawan A., Devianto H.. "Biofilm corrosion and biocorrosion of carbon steel in diesel-biodiesel storage tanks" (2021). *Jurnal Pespitasi*, Vol. 18, N° 1, 45.
- [22] Wang W. Wang H.Xu and Xu L.. "Electrochemical techniques used in MIC studies", (2006) *Materials and Corrosion*, 57, No. 10.
- [23] Mansfeld F. and Little B. "Electrochemical Techniques Applied to Studies of Microbiologically Influenced Corrosion (MIC)", (1992). *Trends in electrochemistry*,. pp. 47-61.
- [24] Wang D., Saleh M.A., Kimseramee S., Suchada Prinpruk, C. Tinguere. "Tafel scan scheme for microbiologically influenced corrosion of carbon steel and stainless steel" (2022). *J. of Materials Science and Technology*, Vol. 130, pp. 193-197.
- [25] Moradi M., Ghiara G., Spotorno R., Xu D., Cristiani P. "Understanding Biofilm Impact on Electrochemical Impedance Spectroscopy Analysis in Microbial Corrosion and Microbial Corrosion Inhibition Phenomena" (2022). *Electrochimica Acta*, Vol. 426. DOI/10.1016/j.electacta.2022.140803
- [26] Sooknah R. Papavinasam S., Revie R.W., "Monitoring Microbiologically Influenced Corrosion: A Review Of Techniques" (2007). *NACE International Corrosion Conference Series*.
- [27] Giorgi-Pérez A.M. Arboleda-Ordoñez A.M., Villanizar-Suarez W., Cardeñosa-Mendoza M. Jaimes-Prada R., Rincon Orozco B. Niño'Gomez M.E." Biofilm formation and its effects on microbiologically influenced corrosion of carbon steel in oilfield injection water via electrochemical techniques and scanning electron microscopy" (2021). *Bioelectrochemistry*, Vol. 14, pp. 2-9.

- [28] Wenwen D. “Electrochemical investigation of increased carbon steel corrosion via extracellular electron transfer by a sulfate reducing bacterium under carbon source starvation” (2019), *Corrosion Science*, pp. 1-10.
- [29] Liying C., Zhi-yong L., Peng H. Shao. “Laboratory Investigation of Microbiologically Influenced Corrosion of X80 Pipeline Steel by Sulfate-Reducing Bacteria” (2021), *ASTM International*.
- [30] Nagiub N. and Mansfeld F., “Evaluation of microbiologically influenced corrosion inhibition using electrochemical noise analysis” (2001). *Corrosion Science* Vol. 43, Letter, pp. 2001-2009.
- [31] Stamps B., Bojanowski C.L., Drake C.A., Nunn H.S., Lloyd P.F., Floyd J.G., Emmerich K.A., Neal A. R. Crookes-Goodson W. J. Stevenson B.S.” In situ linkage of fungal and bacteria proliferation to microbiologically influenced corrosion in B20 biodiesel storage tanks” (2020). *Front. Microbiol.*, vol 11.
- [32] Pusparizkita Y. M. et al. “Effect of bacillus megaterium biofilm at various concentrations of biodiesel on the corrosion of carbon steel storage tanks” (2022). *Biointerface Research in Applied Chemistry*, vol 12, Issue 4, 5698-5708.
- [33] Pusparizkita Y. M., Harimawam A., Devianto H., Setiadi T. “Evaluation of biocorrosion on carbon steel by bacillus megaterium in biodiesel and diesel mixtures”. *Engineering and Technological Science*, 52 (3):370.
- [34] Komarian L. N., Arita S., Rendana M., Ramayanti C., Suriani N.L., Erisna D.. “Microbial contamination of diesel-biodiesel blends in storage tanks. An analysis of colony morphology” (2022). *Helijon*, vol. 8, Issue 4.
- [35] Khan M.A.A., Hussain M. Djavanroodi F. “Microbiologically influenced corrosion in oil and gas industries: A review” (2021), *Int. J. Corros. Scale Inhib.* 10, no. 1, 80–106.
- [36] Skovhus T. L., Eckert R.B., Rodrigues E. “Management and Control of Microbiologically Influenced Corrosion (MIC) in the Oil and Gas Industry Overview and a North Sea Case Study,” *J. Biotechnol.* 256 (2017): pp. 31-45.
- [37] Salgar-Chaparro Silvia J., Darwin A., Anna H. Kaksonen A.H., Laura L. “Carbon steel corrosion by bacteria from failed seal rings at an offshore facility” (2020). *Nature, Scientific Reports*, 10:12287.
- [38] Kermani B., Chevrot T. “Pipeline corrosion management: A compendium” (2014), *Corrosion, paper* 3723.
- [39] Agudelo-Vera C., Avvedimento S., Boxall J.B., Creaco E. “Drinking water temperature around the globe. Understanding, policies, challenges and opportunities”, (2020). *Water* (12), DOI:10.3390/w12041049.
- [40] Enzien M. and Yang B., “Effective use of monitoring techniques for use in detecting and controlling MIC in cooling water systems” (2001). *The Journal of Bioadhesion and biofilm Research*, Vol. 17, Issue 1.
- [41] Lisina G. J., “Monitoring biofilms on metallic surfaces in real time”, *Corrosion* 2001, Houston Texas, 23.
- [42] Wang Di, Unsal U., Kumseranee S., Punpruk S., M. A. Saleh, Alotaibi M.D., Xu D., Gu T. “Mitigation of carbon steel biocorrosion using a green biocide enhanced by a nature mimicking antibiofilm peptide in a flow loop” (2022). *Bioresources and Bioprocessing*, 9, N° 67.
- [43] Ru J., Unsal T., Xu D. Leckbach Y. Gu T. “Microbiologically influenced corrosion and current mitigation strategies: A state of the art review”. (2019) *International Biodeterioration and Biodegradation*, Vol. 137, pp.42-58.

[44] Fytianos G, Banti D., Dushku E., Papastergiadis E. “Novel approaches for biocorrosion mitigation in sewer systems” (2021), *Chemistry*, 3(4), 1166-1177.

[45] He K. and Pilloni G.. “Method for mitigating microbial influenced corrosion” US Patent 20160360749A1.

[46] Lavanya M. “ A brief insight into microbial corrosion and its mitigation with ecofriendly inhibitors” (2021), *Journal of Bio-and Tribo-corrosion*, 7, N° 125.

[47] Guiamet P., Lavin P., Gassa L.M., Gomez de Saravia S.G. “Mitigation of biocorrosion in an urban solid waste treatment plant” (2014), *NACE International*, ISSN: 0094-1492.

[48] Lu S., Chen S., Dou W., Sun J., Wang Y., Fu M., Chu W., Liu G. “Mitigation of EH36 ship steel biocorrosion using an antimicrobial peptide as a green biocide enhancer”. *Bioelectrochemistry*, 2023. Doi:10.1016/j.bioelechem.2023.108526.