Montero Campos, Virginia.
Estudio de casos Aislamiento de bacterias del hierro y azufre como productoras de biodeterioro o corrosión anaeróbica en tuberías y daño a otros materiales.
Tecnología en Marcha. Vol. 18 N.° 2 Especial.

Estudio de casos

Aislamiento de bacterias del hierro y azufre como productoras de biodeterioro o corrosión anaeróbica en tuberías y daño a otros materiales

Virginia Montero Campos [1]

Palabras clave

Biocorrosión, *biofouling*, biodeterioro, microorganismos fastidiosos, bacterias filamentosas, quimioautófros.

Resumen

Los procesos de biodeterioro son reconocidos actualmente como una de las mayores causas de deterioro en superficies de diversos materiales, que afectan a una gran cantidad y diversos tipos de industrias.

Una superficie metálica en contacto con agua o tierra experimenta una serie de cambios biológicos e inorgánicos que constituyen el *fouling*. La posterior secuencia de cambios biológicos es debido a la adherencia irreversible de diferentes tipos de microorganismos sobre el metal a través del material polimérico extracelular, constituyendo ello, el *biofouling*.

La biocorrosión y el *biofouling* de las superficies se deben a procesos biológicos y electroquímicos que ocurren mediante la participación de microorganismos adheridos a las superficies a través de *biofilmes*. Estas películas biológicas modifican las condiciones de la interfase metal/solución, formando una barrera al contacto entre el metal o material y el medio circundante, se considera que la corrosión microbiológica transcurre entonces sobre una superficie modificada con características fisicoquímicas y biológicas muy particulares y condicionadas, donde no se puede interpretar con los mismos parámetros de un proceso de corrosión inorgánica.

Los biofilmes (Figs. N.º 1 a 4) son considerados como una matriz gelatinosa de material polimérico extracecular (MPE) de naturaleza polisacárido con un elevado contenido de agua, células microbianas y detritos inorgánicos variados. Las reacciones químicas

1 Microbióloga y Química Clínica, Laboratorio de Servicios Químicos y Microbiológicos CEQIATEC. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Tel. 591-5149. Correo electrónico: *vmontero@itcr.ac.cr.*

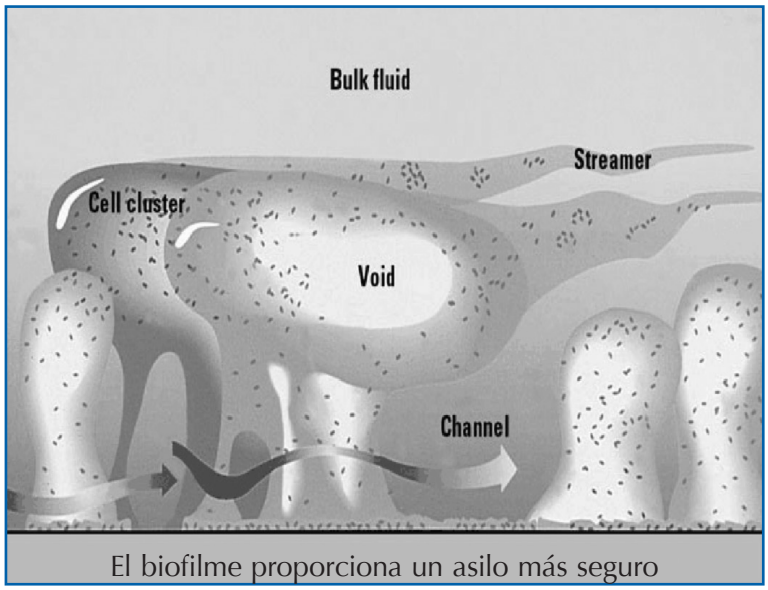


Figura N.º 1. La película biológica proporciona un asilo seguro para las bacterias donde pueden reproducirse y donde pueden residir, librándose del arrastre de las corrientes y pueden defenderse mejor de los cambios y componentes nocivos del agua.



Figura N.º 2. Las estructuras que forman estas microcolonias contienen canales, por los que circulan los nutrientes, y en las distintas partes del biofilme las células expresan diferentes genes, como si fueran un tejido organizado.

que se producen entre los metabolitos microbianos y la superficie de los materiales tienen lugar por debajo del biofilme o dentro de su estructura, esto implica que la formación del biofilme acelera o retarda la corrosión.

Su efecto sobre los materiales es fundamental para implementar medidas de prevención y control adecuados a los sistemas, equipos y materiales implicados.

Entre las formas en que un *biofouling* puede inducir a un proceso de corrosión están: metabolismo microbiano heterogéneo a través de la estructura del *biofilme*, a través de una posible acción quelante del *biofilme* sobre ciertos iones, lo cual modifica la conductividad eléctrica del medio a través de la acción de los MPE, dificulta el acceso de sustancias biocidas y altera la concentración o acción de inhibidores de corrosión.

Una biocorrosión es posible cuando se presentan varios de los factores determinantes: temperatura apropiada entre 20-50 °C (si existiera la posibilidad de microorganismos termófilos, la temperatura sería hasta 80 °C), amplio rango de pH entre 4,5-9,0, presencia de nutrientes esenciales para su desarrollo: agua, nitrógeno, carbono, niveles de iones específicos como sulfatos y férricos, existencia de zonas de menor velocidad de flujo, donde la formación de depósitos y áreas anaeróbicas es posible.

Para probar el origen biológico del problema, es necesario corroborar la presencia de microorganismos viables, principalmente en los depósitos y la fase acuosa, aislar e identificar las especies microbianas presentes y verificar las características del ataque, de acuerdo con las características fisicoquímicas del medio.

El uso de técnicas adecuadas de muestreo y seguimiento, complementados con metodologías microbiológicas y electroquímicas, es necesario para poder entender los efectos derivados de la actividad microbiológica, así como revisar la historia previa del proceso.

La determinación del escenario del biodeterioro, desde el punto de vista de la fisiología y bioquímica de los

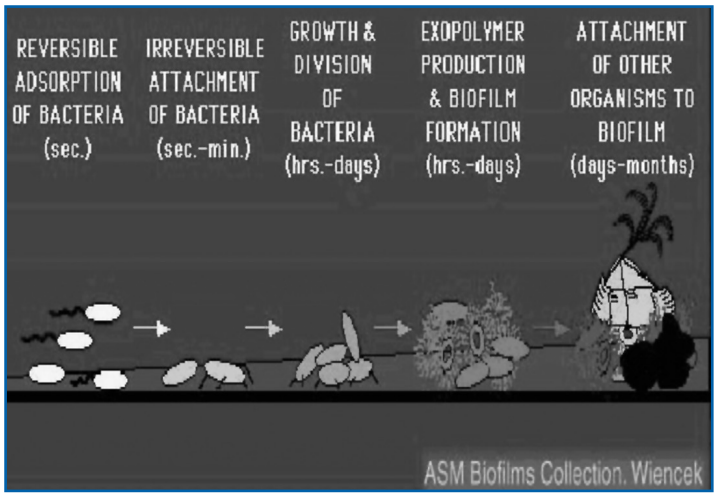


Figura N.º 3. Los *biofilmes* en medios dulces o marinos pueden desarrollarse y llegar a ser muy complejos, según las fuentes de energía que dispongan.

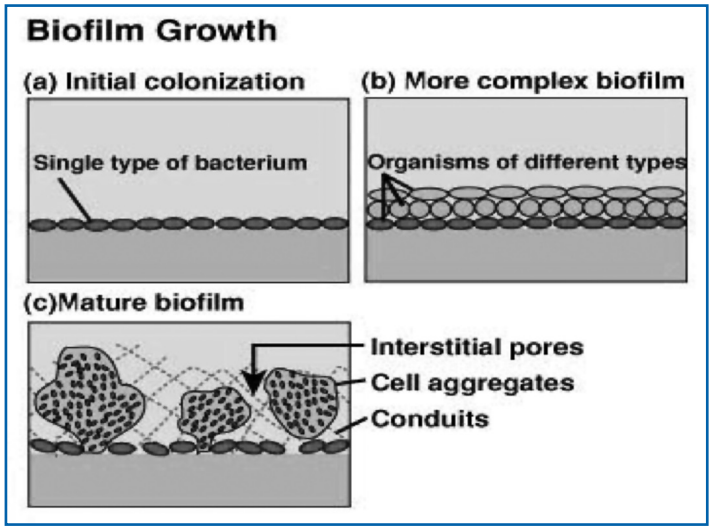


Figura N.º 4. Dependiendo del ecosistema acuático en particular (luz, nutrientes y velocidad de difusión) estas películas biológicas pueden ser más complejas con capas de organismos de diferentes tipos funcionales.

Un ejemplo típico y muy frecuente es el formado por organismos fotosintéticos en la capa superficial quimiorganótrofos en la capa media y microorganismos reductores de sulfato en la capa profunda.

microorganismos, no es fácil, pues en el problema intervienen varios tipos o grupos donde cada uno llevará una función específica (Fig N.º 4), pues unos llevarán a cabo la función de la fabricación de los exopolímeros y otros, que son las llamadas bacterias de azufre y el hierro, serán las responsables de los daños de la biocorrosión y biodeterioro, casos que nos ocupan más adelante.

Las bacterias de azufre y del hierro, como se les ha llamado colectivamente en la literatura, son un grupo de microorganismos fastidiosos (difíciles de crecer en medios de cultivos y de necesidades nutricionales específicas), son morfológica y fisiológicamente heterogéneas, teniendo en común la habilidad de transformar y depositar cantidades significativas de hierro y azufre de forma limosa; generalmente están asociadas en algunos casos con otras bacterias productoras de los MPE.

Este selecto grupo bacteriano puede corresponder a bacterias filamentosas con vaina y sin vaina o células solas, autótrofas o heterótrofas, aeróbicas o anaeróbicas y de posición taxonómica muy diversa; aún más, en diferentes condiciones ambientales, algunas de ellas pueden aparecer, como de hierro o de azufre, incluso tienen la enorme capacidad de crecer en condiciones oligotróficas (capaces de sobrevivir en ambientes con muy poca cantidad de nutrientes).

La obtención de su energía puede ser total o parcialmente inorgánica; se les llama del hierro y de azufre por la extraordinaria capacidad que poseen de transformación de estos elementos presentes en: sistemas de distribución o tratamientos de agua,



Tubería con gran cantidad de biocorrosión.



Figura N.º 5. Cultivo de bacteria filamentosa. En medio de cultivo elaborado con el agua del río.

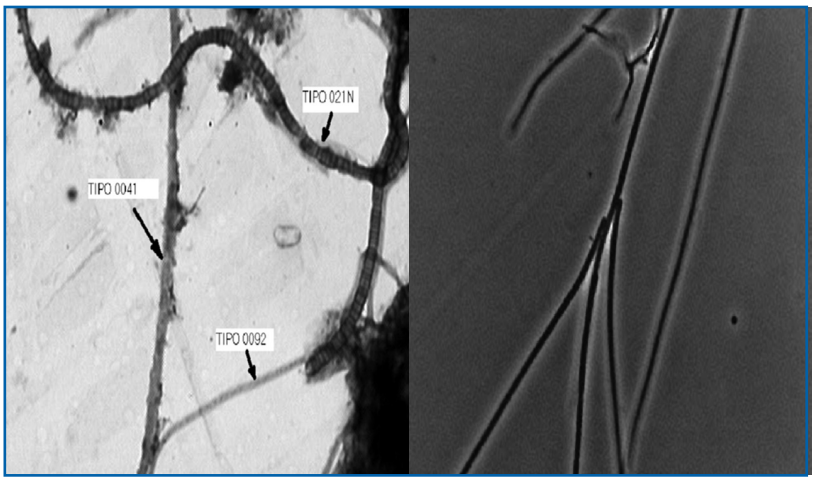


Figura N.º 6. Fotografías de bacterias. Filamentosas con tinción de Neisser (aumento 1000 veces).

sistemas de calentamiento o enfriamiento de agua, o de lugares tan poco comunes como los casos que a continuación se presentarán.

Antecedentes caso corrosión anaeróbica en tuberías

Desde sus inicios hace unos 8 años, en un proyecto hidroeléctrico importante, en el Cantón de San Carlos, Alajuela, en las tuberías que conducían el agua, se empezó a notar en las caras internas de estas unas manchas negras. Con el tiempo, estas manchas se tornan más pronunciadas y poco a poco las cubre un precipitado marrón, para formar entonces como una especie de "concha dura", sobre el precipitado negro, que luego es marrón; con el paso del tiempo este precipitado perfora todo el grosor de la tubería y provoca un agujero hasta casi el exterior (Figura. N.º 9). El problema no continúa si hay contacto con el aire (la corrosión no continúa, la detiene la pintura externa de la tubería)

Dos ríos son utilizados en la represa hidroeléctrica de San Carlos, el Delicias y el Caño Grande. Se procedió a tomar muestras del agua de cada río para análisis químicos y microbiológicos, así como muestras del precipitado interno negro de la tubería y del precipitado marrón.

Se analiza el agua de los ríos químicamente para determinar la existencia de metales o de sus sales que puedan, en primera instancia, causar corrosión química y además poder formar precipitados negros y marrones compatibles con lo observado debajo de las "conchas", de estos análisis se concluye que no hay en el agua ninguna sustancia química que por sí misma pueda provocar el problema de corrosión encontrada e incluso se describe la muestra como agua suave.

Se realizó un montaje directo al microscopio con tinción de Gram y se fabricó un medio de cultivo con requerimientos químicos necesarios (agua de río, amortiguadores químicos, nitrógeno, azufre, fósforo y hierro) para el crecimiento de estos microorganismos fastidiosos; se inoculó por estría



Figura. N.º 7. Piso perlato de la piscina con daño por bacterias sulfato reductoras, el ataque a la piedra al tacto se siente duro, como parte del material.



Figura. N.º 8 Túnel de entrada del agua a las piscinas donde se puede observar el biodeterioro con depósitos de materiales producto del metabolismo bacteriano en el concreto, la muestra se debe tomar con bisturí, el concreto se deforma.

profunda y se procedió a la incubación a temperatura ambiente. Luego de quince días se observó el crecimiento filamentoso negro de un microorganismo (Figura. N.º 5) el cual al montaje directo y tinción de Gram corresponde a una bacteria filamentosa, que se clasifica por morfología y tinción como *Sphaerotilus* sp. (Standard Methods, 1999)

Antecedentes de daño a piedra decorativa

La piedra caliza conocida como perlato fue colocada en varias piscinas de un hotel de montaña en Costa Rica (esta había sido ya utilizada con éxito en piscinas de otras áreas del país). Al hotel fluyen libremente aguas de dos ríos a sus piscinas, el hotel está ubicado en una zona retirada montañosa cercana a un parque nacional, lo que podría considerarse una " zona virgen" libre de la contaminación de la ciudad. Al poco tiempo de colocada la piedra, aparecen manchas negras (Figura. N.º 7), las cuales no ceden fácilmente, solo al tratamiento con cierto tipo de ácidos fuertes.

Se procedió entonces a la toma de muestras del agua de los dos ríos y las piscinas, para análisis en busca de elementos químicos que pudieran, en primera instancia, ser responsables del daño a la piedra; asimismo, también se realizó análisis químicos directamente a la piedra.

También se tomó muestras de precipitados adheridos a la piedra en un túnel de entrada de las aguas a las piscinas (Figura. N.º 8); así como agua de los ríos para análisis microbiológicos.

Se determinó que el agua de los ríos contenía los niveles de hierro, sulfatos, dureza y conductividad dentro de parámetros normales.

Se procedió entonces a realizar un montaje directo y tinción al microscopio de los precipitados del túnel de entrada del agua en las piscinas y se realizó una concentración del agua de los ríos y las piscinas por medio de técnicas de filtración con membrana de nitrocelulosa de 0,45 micras.

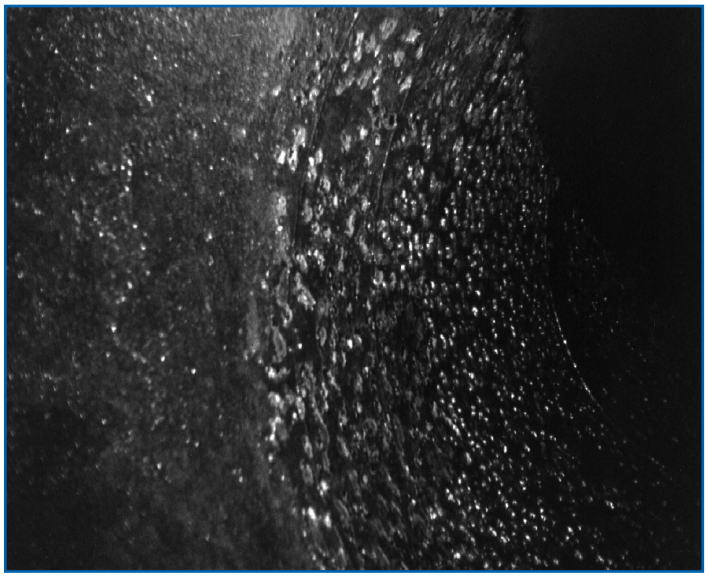


Figura. N.º 9. Daño por biocorrosión anaeróbica en las caras internas de las tuberías de conducción de agua en el proyecto hidroeléctrico, nótese el daño provocado por las bacterias (huecos).

A la observación y tinción de Gram, se observa la presencia de tres diferentes tipos de bacterias filamentosas en cantidades apreciables.

Discusión

El ambiente en el cual se lleva a cabo la corrosión en ambos casos es a pH neutro; por lo tanto, se ubican en esta categoría los microorganismos responsables, siendo de corrosión neutra. De acuerdo con el pH del ambiente en que se desarrolla el problema, así será el tipo de microorganismo hallado, según lo establecido en la literatura (Standard Methods, 1999).

La Figura. N.º 10 muestra, según se pudo presumir con base en el ambiente bioquímico en el cual se da el problema de la corrosión de las tuberías del proyecto hidroeléctrico. Se recuerda que el microorganismo es quimioautotrófo; por lo tanto, tiene la "maquinaria" enzimática necesaria para nutrirse de fuentes inorgánicas para sus procesos energéticos; las reacciones se presentan en forma esquematizada (véase esquema).

El precipitado de hierro (III) color marrón forma las conchas que se observan

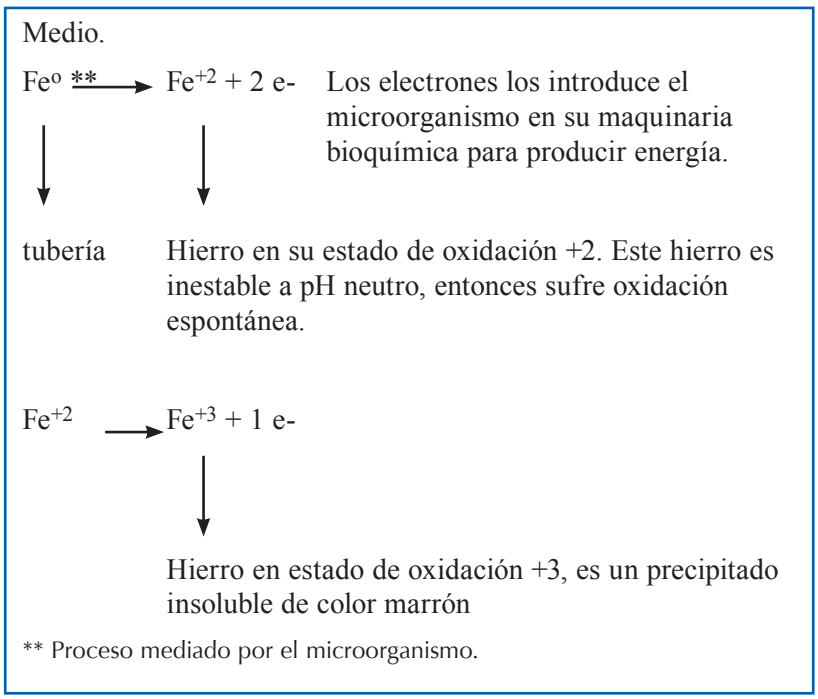


Fig. N.º 10. Ambiente químico de la biocorrosión mediada por el microorganismo..

internamente en las tuberías (Figura. N.º 9); a su vez, sirve de aislamiento a la bacteria para su crecimiento anaeróbico.

En el caso del daño a la piedra caliza o perlato de determinó que esta posee una gran cantidad de azufre, el pH del agua que entra a las piscinas es neutro, incluso se observa que se encuentra otra piscina en el Hotel la cual posee otro tipo de piedra (piedra de río de superficie extremadamente dura) la cual no es atacada por el microorganismo, a pesar que se nutre del mismo río.

Al igual que el caso anterior y de acuerdo con lo reportado en la literatura, estos microorganismos tienen la facultad de sobrevivir en ambientes oligotróficos, con muy pocas condiciones nutricionales, pero a la vez específicas; son quimioautótrofos, incluso se describe que aún el mismo microorganismo puede hallar como fuente de energía sustratos de hierro o de azufre, dependiendo de la naturaleza química del ambiente donde se halle.

Las bacterias que oxidan o reducen cantidades significativas de azufre inorgánico, pueden crecer anaeróbicamente y reducir sulfatos SO_4^{2-} a sulfuro de hidrógeno H_2S, otro grupo las sulfo-oxidadoras aeróbicas oxidan o reducen compuestos azufrados hasta obtener energía para su crecimiento quimioautótrofo.

Las bacterias sulfato reductoras contribuyen a la "tuberculización" y corrosión galvánica en tuberías; a su vez, pueden producir ácido sulfúrico, el cual contribuye a la destrucción de canales de concreto y a la corrosión ácida de metales.

Conclusiones

Se ha determinado que estos tipos de microorganismos se encuentran contaminando aguas de tipo residual, lagos o lagunas, embalses, aguas de origen volcánico térmico y otras fuentes orgánicas de alto contenido sulfuroso o férrico; llegan al agua de los ríos por contaminación cruzada, o son propias de ellas; en algún lugar de su trayectoria pueden ocasionar problemas de sabor, olor o turbiedad.

Los problemas descritos se presentaron por la ausencia de revestimientos en el caso de las tuberías interno, y en el caso de la piedra revestimiento externo; esto no se prevé; se nota hasta que el problema ya ha avanzado demasiado, y ocurre a pesar de que se determina que el agua es "suave", pues no se toman las debidas precauciones. Estos microorganismos se encuentran contaminando el agua aún determinándose la ausencia de microorganismos indicadores de mala calidad sanitaria, como lo son las bacterias del grupo coliforme y *Escherichia coli*.

Las recomendaciones para el tratamiento de los problemas: en el caso de las tuberías de la empresa hidroeléctrica en las zonas de gran daño, se debe proceder al reemplazo de las tuberías; y las zonas donde el problema se estaba iniciando al lavado periódico con sustancias desencrustantes a presión o bien procedimientos de protección catódica; esto es importante pues por las condiciones ambientales del lugar, el microorganismo se encuentra prácticamente de forma natural en el agua, esto implica que deberán vivir con el problema y lo que queda es la prevención con el uso de los materiales adecuados.

En el caso de la piedra perlato, se recomienda la limpieza a presión con ácidos fuertes, luego al sellado de los poros y un posterior revestimiento grueso que no le permita al microorganismo implantarse, pues él llegará de nuevo a la piedra en los lugares donde se encuentre azufre disponible, al igual que en el caso anterior, deben vivir con el problema pues el microorganismo vive en el agua del río

y tiene focos importantes en el túnel de entrada y del agua a la piscina, no pueden tampoco ser utilizados en estas piscinas pisos cerámicos pues el microorganismo ataca la sisa de cemento (tiene azufre), literalmente "devorándola", por supuesto él no puede atacar así al piso cerámico.

Un agradecimiento especial al Dr. Jorge Elizondo, por el envío de las fotos correspondientes a la figuras 7 y 8, así como a la Fundación de la Universidad de Salamanca al Departamento de Microbiología y Genética, por el acceso a las figuras N.º 1 a 4 correspondientes a la formación de *biofilmes*.

Bibliografía

1. APHA/ AWWA/ WEF, 1999. *Standard Methods for the Examination of water and wastewater.* 20th edition, Publication Office APHA, Washington, DC, pp 9.74 a 9.84

2. *Bacterias sulforreductoras.* 2004. disponible en: http://dirdoc.ucv.cl/bacterias/grupo 7.html

3. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 1994. 9th Ed. Williams & Wilkins. Editorial Batimore Maryland. Pag 335-340

4. Betancourt Marisol, Botero Javier Enrique, Rivera Sandra. 2004. "Biopelículas: una comunidad microscópica en desarrollo". Colombia. *Medica Corporación* Editora Médica del Valle. Vol. 35, N.º 3 (Supl 1) pp. 34-39.

5. Fundación General de la Universidad de Salamanca, España, *Curso Análisis Microbiológico del Agua*. Laboratorio Virtual, 2005. Departamento de Tecnología Educativa, Depto. de Microbiología y Genética.

6. Madigan Michael, Martinko John, Parker Jack. 1998. *Biología de los microorganismos, 8ed. Prentice may*, Madrid pp. 575-578.

7. M.D Ferrari, M.F.L. de Mele H.A Videla. *Manual practico de Biocorrosión y Biofouling para la industria*. CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo. Subprograma XV/Impacto Ambiental.

8. Arias Rodrigo, 2002. *Caracterización microbiológica vrs. eficiencia DQO. Determinación comparativa de 2 estaciones depuradoras de aguas residuales domésticas*. Informe de Práctica de especialidad para optar por el grado de bachiller en Ingeniería en Biotecnología. San José. Costa Rica.

9. Videla H.A Bianchi F, et al 1994 *Monitoring Biocorrosión and biofilm in industrial waters: practical approaches in microbially influenced corrosion testing* J.R. Quemas. Edf Philadelphia USA. pp. 128-132.