

Mitteilungen des
fkks Fachverband Kathodischer
Korrosionsschutz e. V.

1/2021

Übersicht über mikrobiologisch beeinflusste Korrosion und die Funktion von Biofilmen

J. Telegdi,^{1,2,*} A. Shaban¹ and L. Trif¹

¹ Institute of Materials and Environmental Chemistry, Research Centre for Natural Sciences, Budapest, Hungary

² Óbuda University, Faculty of Light Industry and Environmental Engineering, Budapest, Hungary

* E-mail: telegdi.judit@ttk.hu

Zusammenfassung

Die mikrobiologisch/mikrobiell beeinflusste Korrosion (MIC) ist eine Sonderform der Korrosion, bei der die Mikroorganismen durch ihre Anwesenheit und aggressive Stoffwechselprodukte die Vorgänge an festen Oberflächen über elektrochemische und chemische Reaktionen verändern. Bei Anwesenheit von Mikroorganismen erfolgt in den meisten Fällen der Abbau von Metallen oder Legierungen durch die in Biofilmen eingebetteten Mikroben und durch ihre ausgeschiedenen Stoffwechselprodukte (z.B. Säuren), Makromoleküle (mit komplexbildender Fähigkeit) und durch andere Moleküle, die unlösliche Ausfällungen bilden können; alle diese Reaktionen erhöhen die Verschlechterung. Der Beitrag fasst die wichtigsten Merkmale der MIC zusammen, vor allem die sogenannte Biorosion von Metallen und Legierungen. Es werden nicht nur die chemischen und elektrochemischen Prozesse, sondern auch die Rolle der korrosionsrelevanten Mikroorganismen in den Verschlechterungsprozessen, sowie die in der Vergangenheit und in der letzten Zeit erarbeiteten Informationen über die Mechanismen der MIC diskutiert. Die wichtigsten (aeroben, anaeroben, schleimbildenden, säurebildenden etc.) Mikroorganismen, deren Nährstoffbedarf und die Bildung und Rolle von Biofilmen werden vorgestellt, charakterisiert und diskutiert, sowie der Einfluss von Biofilmen auf die MIC aufgezeigt. Der Einfluss von Metallen auf die MIC wird ebenfalls diskutiert. Die Geschichte der Forschung über MIC von ihrer Entdeckung bis zum 21. Jahrhundert wird die enorme Arbeit aufzeigen, die das Verständnis dieser speziellen Art von Korrosion sowie ihres Mechanismus und der Rolle des Biofilms bei MIC ermöglicht hat. Der Beitrag wird die Reaktionen aufzeigen, die zwischen der Schleimschicht (die die Mikroorganismen auch in planktonischer Form umgibt) und der Metalloberfläche ablaufen. Die am häufigsten verwendeten Techniken zur Visualisierung des Geschehens auf der Oberfläche und zur Messung der Änderung der Stromdichte/des Korrosionspotentials und der Korrosionsrate aufgrund der mikrobiellen Einwirkung werden ebenfalls zusammengefasst und in allen Fällen werden die Vor- und Nachteile aller Methoden diskutiert.

1. Geschichte von MIC

Mikrobiologisch beeinflusste Korrosion ist keine neue Korrosionsart, aber ihre Besonderheit ist, dass Mikroorganismen durch ihre Anwesenheit (direkt oder indirekt) und durch ihre aggressiven Stoffwechselprodukte die Geschwindigkeit der Metallkorrosion erhöhen. MIC kann Metalle zersetzen, die Meerwasser, Süßwasser, demineralisiertes Wasser, Prozesschemikalien, Lebensmittel, Böden, Flugtreibstoffe, menschliches Plasma und Abwasser ausgesetzt sind.

Mikroorganismen können die Geschwindigkeit von Teilreaktionen beschleunigen und eine erhöhte Korrosion verursachen. Mikrobiologisch initiierte/beeinflusste Korrosion wurde erstmals von Garrett [1] erwähnt, der über bakterielle Zersetzung von bleiummantelten Kabeln berichtete. Der darauffolgende Bericht wurde von Gaines veröffentlicht, der die unerwünschte mikrobielle Zersetzung mit dem Vorhandensein von Schwefel in den Korrosionsprodukten in Verbindung brachte [2].

Nach der Pionierarbeit von von Wolzogen Kuhr und van der Flugt im Jahr 1934 [3] gab es bis in die 1960er Jahren nur wenige Publikationen über praktische Fälle. Bereits 1926 isolierten Mikrobiologen sulfatreduzierende Bakterien in einer Umgebung aus Öl [4, 5].

Die Existenz des Biofilms wurde erstmals 1943 von Zobel erwähnt [6], und danach begann eine intensive Forschung über die MIC, die zur Akzeptanz dieser speziellen Art von Korrosion führte, die durch Mikroorganismen initiiert und verstärkt (und in einigen Fällen gehemmt) wird. Die Entwicklung wurde durch die Ausarbeitung/Entdeckung von oberflächenanalytischen, elektrochemischen und mikroskopischen Techniken unterstützt, die die Klärung der Rolle von biotischem und abiotischem Sulfid bei der mikrobiologisch beeinflussten Korrosion förderten.

In den 60er und frühen 70er Jahren widmete sich die Forschung über MIC dem Einwand oder der Verifizierung der anaeroben Eisenkorrosion, die durch sulfatreduzierende Bakterien hervorgerufen wird. Die Forscher konzentrierten sich auf die Erklärung der MIC-Mechanismen durch die kathodische Polarisationstheorie. Das Hindernis des angemessenen Wissenstransfers zwischen den verschiedenen Spezialisten erklärt die Schwierigkeit, ein angemessenes Verständnis von MIC zu erreichen. In den 1980er Jahren, die einen bedeutenden Fortschritt im Verständnis von MIC brachten, führten mehrere Forschungsgruppen intensive Untersuchungen zur Aufklärung der MIC-Mechanismen durch. Eine zunehmende intellektuelle und technische wechselseitige Befruchtung durch von Mikrobiologen, Materialwissenschaftlern und Elektrochemikern erarbeitete Ideen, verbesserte das Verständnis von MIC. Die 1990er Jahre brachten einen Durchbruch im Wissen über MIC. Die Verzögerung lag nicht nur an der mangelnden Zusammenarbeit zwischen Spezialisten (Chemiker, Mikrobiologen und Metallurgen), sondern auch am Fehlen von speziellen Instrumenten, die die zerstörerische Aktivität der an einem Biofilm beteiligten Mikroben messen konnten.

Das einundzwanzigste Jahrhundert führte zu einer Weiterentwicklung neuer analytischer Methoden, die sowohl im Labor als auch in der Industrie anwendbar sind. Einer der aufregendsten Fortschritte in der Instrumentierung, die in diesen Jahren erschienen sind, sind die chemischen/biochemischen Mikrosensoren, die in situ die Veränderungen des Sauerstoffgehalts, des pH-Werts und der Konzentration verschiedener Metaboliten innerhalb des Biofilms analysieren können. Obwohl MIC elektrochemischer Natur ist, verändert die Beteiligung von Mikroben an diesen unerwünschten Reaktionen die Metall-Lösungs-Grenzfläche durch die Bildung von Biofilmen.

In Anbetracht der jüngsten Fortschritte in der MIC-Forschung sind die molekularen Techniken der bakteriellen DNA und RNA die vielversprechendsten Methoden, da sie die Identifizierung der dominanten Bakterien in einem Biofilm ohne Anwendung anderer traditioneller Techniken ermöglichen; sie können das Verhältnis der verschiedenen Mikroorganismen berechnen, die zur MIC beitragen.

Um die Bedeutung dieser Art von Korrosion zu zeigen und um zu versuchen, viele ungelöste/unbeantwortete Fragen zu klären, erschienen in den letzten Jahren wichtige Publikationen über MIC. Es gibt sehr gute Zusammenfassungen (Bücher, Buchkapitel und Publikationen) über MIC, die versuchen, die wesentlichen Phänomene der MIC zusammenzufassen und zu erklären [7, 8].

2. Biofilm, Einfluss von Biofilmen

Biofilm ist die allgemeine Bezeichnung für biologische Ablagerungen, die sich bilden können, wenn eine feste Oberfläche mit Wasser in Kontakt kommt. Nach Charaklis ist der Biofilm eine unerwünschte Ablagerung, die die Leistungskapazität und Lebensdauer von Geräten verringert [9-12], die Wasserqualität verschlechtert und erhebliche finanzielle Folgen hat. In den meisten Fällen ist die Zusammensetzung der Bioablagerungen inhomogen, was zu einer erhöhten mikrobiellen Beeinträchtigung beiträgt.

Aus der Sicht von MIC ist die Biofilmbildung der Schlüsselfaktor, der die Verschlechterung einer festen Oberfläche wesentlich beeinflusst. Die biologischen Veränderungen gehen parallel mit der mikrobiellen Akkumulation, der Biofilmbildung. Die korrosionsrelevanten Mikroben, die die Biofilmbildung initiieren und gleichzeitig aggressive Stoffwechselprodukte (z. B. Sulfidionen und Säuren) sowie exopolymere Substanzen (EPS) ausscheiden, die den

wichtigsten Bestandteil eines gallertartigen Biofilms bilden, sind gefährlich. Die EPS wirken wie ein Klebstoff, der für ein "sicheres Leben" für Mikroben innerhalb des Biofilms sorgt, wo sie sicher wachsen, sich vermehren, Stoffwechselprodukte ausscheiden und mit demselben und mit anderen Mikroorganismen durch Quorum-Sensing-Moleküle kommunizieren können. In wässrigen Umgebungen kolonisieren die Mikroorganismen, nachdem sie sich an Metalle angeheftet haben, und bilden Biofilme; die Umgebung an der Biofilm/Metall-Grenzfläche unterscheidet sich radikal vom Bulk, was den pH-Wert, die Konzentration des gelösten Sauerstoffs und organische/anorganische Spezies betrifft. Dies führt zu elektrochemischen Reaktionen, die die Korrosionsraten steuern.

Der Biofilm beeinflusst die Metalloberfläche wie folgt:

- Er verändert den Transport von Chemikalien von oder in Richtung der Metalloberfläche. Der Biofilm bildet eine Diffusionsbarriere für bestimmte chemische Spezies (Nährstoffe, Metaboliten etc.).
- Über den Biofilm kann die schützende (passivierende) Schicht von der Metalloberfläche entfernt werden.
- Die ungleiche Verteilung der mikrobiologischen Besiedlung erzeugt Belüftungseffekte, die zur Bildung von Belüftungselementen führen, bei denen die Bereiche unter den atmenden Kolonien sauerstoffarm sind.
- An der Grenzfläche Metall - Lösung ändern sich die Oxidations-Reduktionsbedingungen.
- Der Biofilm verändert die Struktur einer anorganischen Passivschicht, löst/entfernt die Metallionen von der Oberfläche durch die Nebenprodukte des Stoffwechsels und durch die exopolymeren Substanzen, die die Metallionen koordinieren können. Die Bildung von Konzentrationszellen wird eingeleitet.

Biofilme unterschiedlichen Ursprungs sind divergent [13]. In den meisten Fällen bildet nicht nur eine Art von Mikroorganismen einen Biofilm, sondern die gesamte Gemeinschaft der Mikroben bildet einen Biofilm aus einer gemischten Population [14-17].

2.1. Die Zusammensetzung von Biofilmen

Der Hauptbestandteil eines Biofilms ist Wasser (75-90 %); die anderen Bestandteile sind wie folgt:

1. Mikroorganismen: Bakterien (autotroph, heterotroph), Pilze, Algen, Cyanobacter, Protozoen;
2. Exopolymere Substanzen (EPS): Polysaccharide, Lipopolysaccharide, Huminsäuren, Proteine, Nukleinsäuren, Lipide [18, 19].
3. Organische und anorganische Stoffe

Die Biomatrizen unterschiedlicher Herkunft unterscheiden sich in den meisten Fällen deutlich [20-23] und ihre Zusammensetzungen sind abhängig von den Nährstoffen [24]. Die EPS gewährleistet die 3D-Anordnung der Mikroben und hält sie voneinander fern. In manchen Fällen sind nicht die EPS, sondern Proteine die wichtigsten Baumeister des Biofilms [25].

Die Struktur der EPS wird durch verschiedene schwache Kräfte sichergestellt:

1. van der Waals-Kräfte (hydrophobe Wechselwirkungen, Bindungsenergie: $2,5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$, Bindungslänge: 0,3-0,4 nm),
2. elektrostatische Wechselwirkungen (Bindungskraft: $12-29 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$),
3. Wasserstoffbrückenbindungen (Bindungskraft: $10-30 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$).

Diese Kräfte herrschen nicht nur zwischen den EPS-Molekülen, sondern auch zwischen den Mikroorganismen und den organischen/anorganischen Substanzen [26].

2.2. Warum leben Mikroben gerne in Biofilmen?

Die gefährlichsten korrosionsrelevanten Mikroorganismen sind meist in sessiler Form, in Biofilme eingebettet, aber viel weniger in planktonischer Form. An Biofilmen beteiligte Mikroben, die in Ablagerungen eingebettet sind, sind gefährlich, da die Bildung eines Biofilms eine Nische für korrosive Mikroben bietet, um zu wachsen und sich zu vermehren. In wässriger Umgebung heften sich Mikroben gerne an feste Oberflächen an, da die Lebensbedingungen im Biofilm für sie besser und sicherer sind als die im Plankton vorhandenen (Abbildungen 1 und 2).

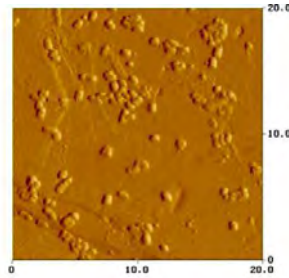


Abbildung 1. Mikroben verstreut auf einer festen Oberfläche (NanoScope III, Digital Instrument).

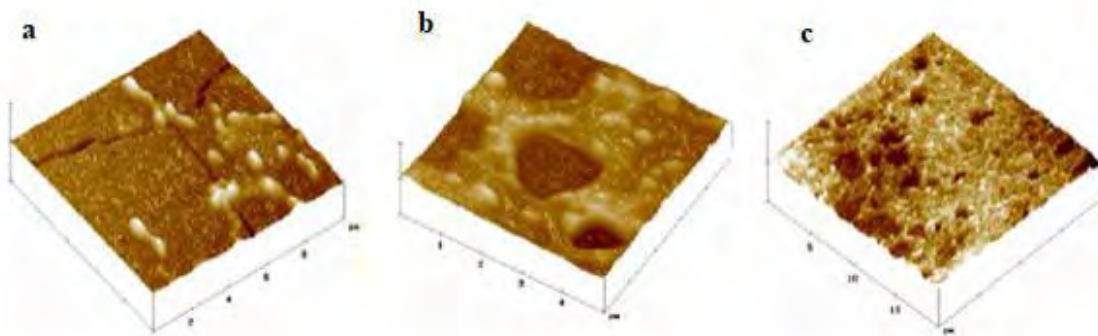


Abbildung 2. Biofilmbildung: a: Mikroben, die an der Oberfläche haften; b: Mikroben eingebettet in EPS; c: die feste Oberfläche ist fast vollständig vom Biofilm eingenommen (NanoScope III, Digital Instrument; z = 1000 nm).

Sowohl in planktonischer als auch in biofilm-einbettender Form sind die mikrobiellen Zellwände von exopolymeren Substanzen umgeben (Abbildung 3), die klebrig sind und die die Adhäsion der Mikroorganismen an Feststoffe ermöglichen. Die Anreicherung von Mikroorganismen auf Metallen, die zu einem Biofilm führt (Abbildung 2), verändert die Mikroumgebung (die Benetzbarkeit, die elektrostatische Aufladung) und fördert die Ansiedlung von Mikroben.

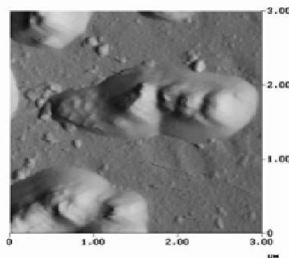


Abbildung 3. *Leptospirillum ferrooxidans* umgeben von EPS (NanoScope III, Digital Instrument).

Der Biofilm ist nicht unbedingt einheitlich in Zeit und Ort (Abbildung 2) sowie im pH-Wert, in gelösten Chemikalien und in der Sauerstoffkonzentration [27]. Es ist notwendig zu erwähnen, dass unterhalb des Biofilms der Metallabbau beginnt (Abbildung 4).

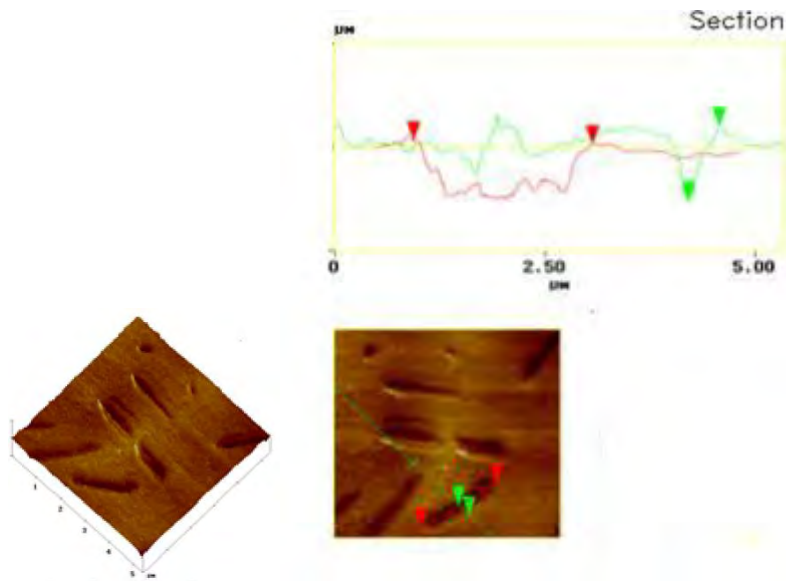


Abbildung 4. Eisenoberfläche geätzt durch den Säureproduzenten *Acidithiobacillus intermedia* (NanoScope III, Digital Instrument; $z = 500 \text{ nm}$).

2.3. Fortschreiten der Biofilmbildung

Zu Beginn einer Biofilmbildung gehen die Mikroorganismen von einer freischwebenden planktonischen zu einer stationären sessilen Lebensweise über. Es entsteht ein Biofilm. Wenn ein chemisch inertes Substrat in eine wässrige Umgebung eingetaucht wird, beginnt fast sofort die Anreicherung von organischen Molekülen auf der benetzten Oberfläche; zunächst bildet sich eine konditionale Schicht, deren Zusammensetzung abhängig ist von den Ionen, Glykoproteinen, Huminsäuren und Fulvosäuren, d.h. von organischen Verbindungen und anorganischen Ionen, die aus der wässrigen Umgebung akkumuliert werden. Die Adhäsion von Mikroorganismen beginnt reversibel und später irreversibel; sie wird durch das Vorhandensein der EPS-Schicht verstärkt (Abbildung 3).

Die Kräfte, die für die Adhäsion von Mikroorganismen verantwortlich sind, sind elektrostatische Wechselwirkungen und van-der-Waals-Kräfte - die gleichen, die die Biofilmstruktur zusammenhalten. Die anfängliche Anhaftung von Zellen wird durch die physikalische Adhäsion zwischen dem Mikroorganismus und dem Substrat gesteuert. Man spricht auch von Adsorption, wenn sich die Erstbesiedler durch schwache, reversible Bindungen (die etwas stärker als elektrostatische Abstoßungskräfte sind) sowie durch Wasserstoffbrückenbindungen an eine Oberfläche anlagern. Die irreversible Anheftung erfolgt durch Sekretion von weiteren EPS, das eine schwammartige Matrix bildet. Dieses adhäsive Material bindet die Mikroorganismen dauerhaft aneinander und gemeinsam an die Oberfläche [28-30].

Der Biofilm wächst weiter und wird vielfältig, indem er durch chemische Botenstoffe weitere Mikroorganismen anlockt. Immer mehr Mikroben sammeln sich an und bilden in kürzerer (einige Minuten) oder längerer (einige Stunden) Zeit eine Schicht. Durch die verstärkte EPS-Produktion sowie die mikrobielle Proliferation entsteht ein dicker, gallertartiger Biofilm; er besteht hauptsächlich aus Wasser, Mikroorganismen verschiedener Spezies und anderen Komponenten aus der wässrigen Umgebung.

Der Biofilm ist ein dynamisches System mit Transportprozessen und chemischen Reaktionen; innerhalb des Biofilms gibt es einen Gradienten des pH-Wertes, der Ionen und der Mikroben. Die Anzahl der anaeroben Zellen nimmt in der Nähe der festen Oberfläche zu, und die aeroben sammeln sich im oberen Teil des Biofilms an, näher an der Grenzfläche Flüssigkeit/Luft. Ihre Aktivität bietet eine natürliche Umgebung für die Anaerobier.

Während der Biofilmbildung finden zahlreiche Veränderungen statt: Zunächst wird in weniger als einer Sekunde eine elektrische Doppelschicht (das führt eine Adsorption von organischen Molekülen herbei, hauptsächlich Proteine) an der Oberfläche des Festkörpers aufgebaut. Im nächsten Schritt adsorbieren Untereinheiten von Fibrinonectin an die Oberfläche, was zu

einer Bindung von mikrobiellen Zellen an die Festkörperoberfläche zunächst reversibel, dann irreversibel über die Zellmembranen führt. Wenn Bakterienzellen an die Oberfläche gebunden sind, machen sie eine phänotypische Veränderung durch und die Ausscheidung der exopolymeren Substanz geht weiter. In all diesen Phasen wachsen die Zellen, proliferieren, metabolisieren (produzieren immer mehr EPS) und bilden eine zusammenhängende Struktur, die als gelartiger Biofilm bezeichnet wird [31]. Es gibt einen Gradienten im Film: In der Nähe der festen Oberfläche befinden sich die anaeroben Mikroben, während die aeroben Mikroorganismen hauptsächlich in der Nähe der Lösung/Luft-Grenzfläche angesiedelt sind. Biofilm-Mikroorganismen leben in maßgeschneiderten Mikro-Nischen in einer komplexen mikrobiellen Gemeinschaft, die Homostase, ein primitives Kreislaufsystem, das metabolische Kooperativität aufweist, und jede dieser sessilen Zellen reagiert mit ihrer speziellen Umgebung auf eine Art und Weise, die sich grundlegend von den planktonischen Zellen der gleichen Spezies unterscheidet [32]. Ein Beispiel für die kooperative Existenz ist das Zusammenspiel der Sulfatreduzierer und der Schwefeloxidierer. Als die wichtigsten aggressiven korrosionsrelevanten Mikroorganismen produzieren die anaeroben Sulfatreduzierer als Hauptmetabolit das $\text{H}_2\text{S}/\text{S}^{2-}$ aus Sulfat-Ionen. Diese Moleküle bilden mit dem Fe^{2+} -Ion einen unlöslichen schwarzen Niederschlag. Dann bedecken schwärzliche Ablagerungen die Oberfläche, die eindeutig auf die Bildung von FeS und die Aktivität der anaeroben Mikroorganismen hinweisen. Die hervorstehenden schwärzlichen Ablagerungen zeigen die Primer-Sulfatreduzierer-Kolonien; darunter ist die Metalloberfläche stärker geschädigt, mit anderen Worten ist hier die Metallauflösung aufgrund der verstärkten Stoffwechselaktivität stärker sichtbar (Abbildung 5).

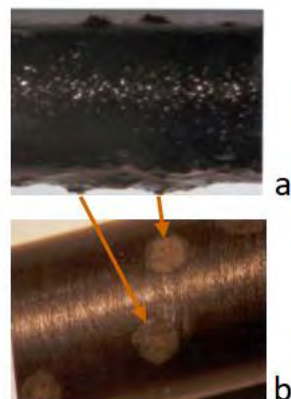


Abbildung 5. Baustahlfläche nach Eintauchen in eine mit *Desulfovibrio desulfuricans* angeimpfte Brühe; a: der schwärzliche Biofilm mit FeS , der die Metalloberfläche bedeckt; b: die Metalloberfläche nach Entfernung des Biofilms; die hellen Punkte stellen die anfängliche Adsorption der anaeroben Mikroorganismen dar.

In einer wichtigen aeroben Reaktion werden die Sulfid-Ionen durch eine von aeroben Mikroorganismen katalysierte Oxidation in Sulfat-Ionen umgewandelt. Dies zeigt, dass die korrosionsrelevanten Mikroorganismen eine sogenannte "Autarkie"-Ökonomie bilden, wenn die Nebenprodukte (Metaboliten) von einer Seite der Mikroben in die gleiche Komponente umgewandelt werden, die ursprünglich zu H_2S umgewandelt wurde. An der Biofilmbildung sind verschiedene Arten von Mikroorganismen beteiligt, so dass ihre kohärente Koexistenz für ihr Überleben unerlässlich ist [33]. Der Biofilm schützt die Mikroorganismen nicht nur vor der äußeren Umgebung und lässt sie unter sicheren Bedingungen leben, sondern unter der Nanoschicht beginnt die Verschlechterung der Metalle, wenn die zuerst eingeleitete Lochfraßkorrosion in allgemeine Korrosion übergeht [34]. Die bakterielle Korrosion wird von der Bildung von Schlämmen und Ablagerungen mikrobieller, organischer und anorganischer Herkunft begleitet, unter denen anaerobe Bedingungen herrschen. Die Adhäsionsneigung von Mikroorganismen an Festkörperoberflächen kann durch verschiedene Ansätze wie Wechselwirkungsenergie, Thermodynamik und durch die Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO) sowie die erweiterte DLVO-Theorie bewertet werden. Diese basieren auf

lang- und kurzreichweitigen Kräften zwischen Bakterien und der Oberfläche, durch den Ansatz der Oberflächenenergie; die physikalischen und chemischen Wechselwirkungen zwischen der festen Oberfläche und dem Biofilm sollten ebenfalls berücksichtigt werden. Weitere Parameter, die den Bewertungsprozess der bakteriellen Akkumulation auf Metallen beeinflussen können, sind die Oberflächenhydrophobie bzw. -hydrophilie sowie die Oberflächenrauigkeit [35-42]. Die Oberflächenbenetzbarkeit, die die Besiedlung mit Foulern beeinflusst, reicht von superhydrophoben bis zu superhydrophilen Oberflächen [43-45]. Eine hydrophobe Oberfläche weist eine geringe Benetzbarkeit und niedrige Oberflächenenergie auf, während eine hydrophile Oberfläche eine hohe Benetzbarkeit und hohe Oberflächenenergie aufweist.

Die Faktoren, die bei der Biofilmbildung eine wichtige Rolle spielen, sind die folgenden:

1. Eigenschaften an der Grenzfläche Metall/Lösung: chemische Zusammensetzung, Konzentration der Komponenten in der wässrigen Umgebung, organische und anorganische Ionenstärke, pH-Wert, Oberflächenoxidbedeckung (Passivschichtdicke), Polarisierung, Rauheit; alle diese Faktoren beeinflussen die bakterielle Anlagerung, Besiedlung und Biofilmbildung maßgeblich.
2. Bakterien/Medium-Eigenschaften: Die mikrobiellen Zellen sind - mit einigen Ausnahmen - bei neutralen pH-Werten negativ geladen. Die Anhaftung einiger korrosionsrelevanter Bakterien (*Desulfovibrio desulfuricans*, *Desulfovibrio singaporensis*, *Pseudomonas*) an Eisenlegierungsoberflächen zeigt die höchsten Adhäsionskräfte bei pH-Werten, die nahe den isoelektronischen Punkten der Bakterien liegen.

Sobald Mikroorganismen eine dicke gallertartige Schicht bilden, können sich Makroorganismen (z. B. Muscheln, Algen, Seepocken), die in natürlichen Gewässern vorkommen, auf der Oberseite des Biofilms ansammeln und zusammen mit anderen anorganischen, unlöslichen Chemikalien (z. B. feste Korrosionsprodukte) eine massive, gut haftende Bioablagerung bilden, die die wirtschaftliche Funktion/Wirksamkeit verringert [42]. Um eine Risikobewertung der Biokorrosion durchzuführen, ist eine ordnungsgemäße Oberflächenbeprobung unerlässlich, auf die eine Identifizierung der Mikroorganismen in den Proben und eine Analyse des Wassers folgen sollte.

3. Klassifizierung von Mikroorganismen

Die Taxonomie ist die Wissenschaft von der Klassifizierung von Organismen, wenn neue oder bestehende Mikroorganismen identifiziert werden. Die Organismen bilden zwei Klassen: Prokaryoten und Eukaryoten.

Die Prokaryoten haben keinen Zellkern und ihre Vermehrung erfolgt durch Spaltung. Die Eukaryoten enthalten echte Zellkerne und ihre Teilung erfolgt durch Mitose. Pilze, Algen und Protozoen, die an der MIC teilnehmen, sind eukaryotische Mikroorganismen; Bakterien, die ständig an der MIC teilnehmen, sind Prokaryoten.

Nach der Morphologie, Physiologie und Genetik lassen sich die Mikroorganismen in drei Gruppen einteilen [46].

3.1. Einteilung nach dem Sauerstoffbedarf

Hinsichtlich des Sauerstoffbedarfs können Bakterien in zwei Gruppen eingeteilt werden: aerobe oder anaerobe Organismen.

Anaerobe Mikroorganismen (oder Anaerobier) sind diejenigen, die keinen Sauerstoff für ihre mikrobielle Aktivität benötigen. Je nach Sauerstoffbedarf werden die Anaerobier klassifiziert als:

- obligate Anaerobier (die Anwesenheit von Sauerstoff ist schädlich);
- aerotolerante Organismen: (sie tolerieren die Anwesenheit von Sauerstoff);
- fakultative Anaerobier (sie können ohne Sauerstoff wachsen, aber sie nutzen Sauerstoff, wenn er vorhanden ist);

Aerobe Mikroorganismen können in einer Sauerstoffumgebung leben, wachsen und sich vermehren. Ihre Klassifizierung ist die folgende:

- obligate Aerobier (sie benötigen Sauerstoff bei der Zellatmung zur Oxidation von Substraten wie Zucker, Fette; bei diesen Reaktionen wird Energie erzeugt);
- fakultative Aerobier (sie benötigen Sauerstoff zur Energiegewinnung, nutzen aber auch die anaerobe Methode zur Energiegewinnung);
- Mikroaerophile (sie benötigen Sauerstoff zur Energiegewinnung, aber der Luftsauerstoff zerstört sie)
- Aerotolerante (sie können Sauerstoff nicht direkt nutzen, aber die Anwesenheit von Sauerstoff zerstört sie nicht).

3.2. Einteilung der Mikroorganismen nach dem Energie- und Kohlenstoffbedarf

Energiequellen:

- Chemotrophe (Atmung): Sie veratmen molekularen Sauerstoff als terminalen Elektronenakzeptor (aerobe Atmung); sie nutzen auch Nitrat (anaerobe Atmung). Methanproduzenten und viele Sulfatreduzierer gehören zu dieser Gruppe.
- Chemotrophe (Gärung): Die Energie stammt aus der Phosphorylierung;
- Chemolithoautotrophe: sie gewinnen die Energie durch Oxidation von anorganischen Verbindungen und aus CO₂; schwefel- und eisenoxidierende Bakterien, nitrifizierende Bakterien gehören zu dieser Gruppe;
- Phototrophe: sie gewinnen Energie durch Photophosphorylierung; sauerstoffverarbeitende und nicht sauerstoffverarbeitende Arten gehören zu dieser Gruppe.

Kohlenstoff-Ressource: dies ist die wichtigste für alle Organismen.

- Heterotrophe: sie decken den Kohlenstoffbedarf aus organischen Verbindungen;
- Autotrophe: sie verwerten Kohlendioxid;
- Chemoheterotrophe, Chemoorganotrophe: im Allgemeinen nutzen die Organotrophen verschiedene organische Verbindungen als Kohlenstoff- und Energiequelle;
- Chemoautotrophe, Chemolithotrophe: sie sind lithotroph; das ATP wird durch oxidative Phosphorylierung erzeugt;
- Myxotrophe: sie sind "chemolithotrophe Heterotrophe", die Kohlendioxid nutzen;
- Photoheterotrophe und Photoautotrophe: sie nutzen Licht als Energiequelle und CO₂ als Kohlenstoffquelle.

3.3. Einteilung der Mikroorganismen nach der taxonomischen Hierarchie

Die Taxonomie klassifiziert neue und bestehende Organismen. Die Hierarchie ist die folgende: Domäne-Königreich-Stamm-Klasse-Ordnung-Familie-Gattung-Spezies-Stämme. Eine einfache Zusammenfassung über den mikrobiellen Bedarf ist in der Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1. Der Bedarf der Mikroorganismen für das Wachstum.

Anforderungen für Mikroben	geliefert durch	Art des Wachstums
Energiequelle	Licht, chemische Substanzen	phototroph, chemotroph
Kohlenstoffquelle	CO ₂ , organische Substanzen	autotroph, heterotroph
Elektronendonator (der oxidiert wird)	anorganische Stoffe, organische Stoffe	lithotroph, organotroph
Elektronenakzeptor (der reduziert wird)	Sauerstoff, NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , CO ₂	aerob, "anoxisch" anaerob

Die am häufigsten verwendeten Methoden zur Klassifizierung von Mikroben sind die folgenden:

1. morphologische Merkmale,
2. differentielle Färbung,
3. biochemische Tests, DNA-Fingerprint der DNA-Basenzusammensetzung,
4. Polymerase-Kettenreaktion und DNA-Chips [47, 48].

Nachdem wir einen Einblick in das Leben der Mikroorganismen erhalten haben, werden im nächsten Teil diejenigen Bakterien vorgestellt, die hauptsächlich für die Biokorrosion verantwortlich sind.

4. Korrosionsrelevante Mikroorganismen

Die Rolle von Mikroorganismen bei der Verschlechterung von Werkstoffen kann unterteilt werden in: Biofouling, Biodeterioration und Biokorrosion (oder MIC).

Es gibt etwa mehrere Dutzend Mikroorganismen, die MIC auf Eisen-, Kupfer- und Aluminiumlegierungen in feuchter oder wässriger Umgebung verursachen. Einige Mikroorganismen besitzen eine extreme Toleranz gegenüber schwierigen Bedingungen wie saurer und alkalischer Umgebung, niedrigem und hohem Druck sowie einem breiten Temperatur- und Salzkonzentrationsbereich. Unter sehr extremen Bedingungen sind sie in der Lage, ihre Aktivitäten (Wachstum, Stoffwechsel und Vermehrung) aufrechtzuerhalten. Sie sind nicht nur in der Lage, solche harten Bedingungen zu tolerieren, sondern sie können spezielle Bedingungen erzeugen und aggressive Umgebungen schaffen, die direkt oder indirekt den Metallverfall fördern.

4.1. Mit MIC assoziierte Mikroorganismen

Die wichtigsten chemolithotrophen korrosionsrelevanten Bakterien sind die folgenden:

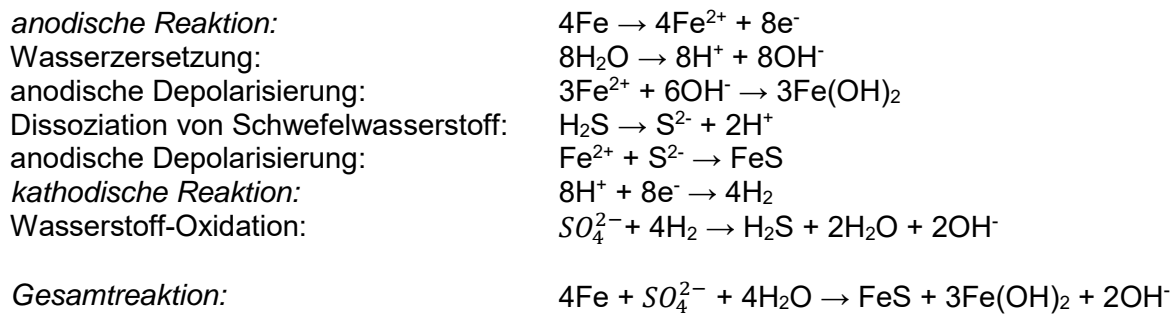
4.1.1. Sulfatreduzierende Bakterien (SRB)

Diese Art von Mikroorganismen hat vier Untergruppen: 1. Proteobacteria; 2. Firmicutes; 3. Thermodesulfobacteria; 4. Archea.

Die anaeroben SRBs gewinnen ihre Energie durch die Oxidation von organischen Verbindungen oder molekularem Wasserstoff (H_2) und die Reduktion von Sulfat (SO_4^{2-})-Ionen zu Schwefelwasserstoff (H_2S). Mit anderen Worten, sie verwenden Sulfat-Ionen anstelle von Sauerstoff in der anaeroben Atmung und oxidieren organische Substanzen zu organischen Säuren oder CO_2 durch die Reduktion von Sulfat zu Sulfid. Der Sulfid-Metabolit kann mit Metallionen reagieren und Metallsulfide (z. B. Eisen(II)-sulfid (FeS)) bilden, die in wässriger Umgebung schwer löslich sind und ein dunkles Schlammbild erzeugen (Abbildung 5).

Die isolierten SRBs können sich in ihrem Aussehen oder in der Energiequelle, die sie nutzen, unterscheiden. Einige SRBs können sowohl elementaren Schwefel als auch Sulfat als Elektronenakzeptoren nutzen. Häufige SRB-Arten sind die Gattungen *Desulfovibrionales*, *Desulfosporosinus*, *Desulfotomaculum*, *Syntrophobacterales*, *Desulfosporomusa* und *Desulfobacterales*. Unter ihnen finden sich auch *Thermodesulfovibrios* als Mitglied des Phylums *Nitrospirae*. Es gibt zwei Arten von thermophilen sulfatreduzierenden Bakterien, die bei höheren Temperaturen aktiv sind: *Thermodesulfobakterien* und *Thermodesulfobium*. Bei der Biokorrosion, bei der SRBs eine wichtige Rolle spielen, werden Sauerstoffkonzentrations-Zellen gebildet, H_2S/S^{2-} werden freigesetzt, die einen unlöslichen Niederschlag bilden, was zu einer kathodischen Depolarisierung führt.

Um zu verstehen, wie die SRBs die Korrosion beschleunigen können, zeigen die folgenden Gleichungen die Hauptreaktionen, die in Gegenwart von Eisen und SRB stattfinden. Die wichtigste ist die Metallauflösung an der Anode und die Reduktion an der Kathode. Diese anodischen und kathodischen Reaktionen sind hier zusammengefasst:



Die Bildung von FeS und Fe(OH)₂-Feststoffen zeigt deutlich, wie die Anwesenheit von Mikroorganismen die Korrosionsgeschwindigkeit erhöht.

4.1.2. Eisen- und/oder Mangan-oxidierende Bakterien (IMB)

Diese aeroben Bakterien können den Stoffwechsel unter Ausnutzung der Oxidation von Eisen- und/oder Mangan-Ionen betreiben. Die mikrobiologisch erzeugten Eisen- und/oder Mangansalzablagerungen sind typischerweise braun gefärbt. Die Entfernung einer schützenden passiven Oxidschicht durch diese Mikroorganismen führt zu einer verstärkten Metallkorrosion.

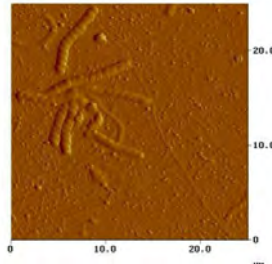


Abbildung 6. Eisenoxidierende Bakterien (Gallionella).

Eisenoxidierende Bakterien wie Gallionella (Abbildung 6), Sphaerotilus, Leptothrix und Crenothrix, die oft durch ihre markanten Morphologien wie die von Gallionella ferruginea gebildeten extrazellulären, verdrehten, bandartigen Stängel identifiziert werden, oxidieren das lösliche Eisen (Fe²⁺) zu unlöslichem Eisen (Fe³⁺) (z. B. zu Fe(OH)₃). Während der Oxidation werden extrem aggressive Eisen(III)-chlorid-Ionen gebildet, die das Milieu in einen sehr niedrigen lokalen pH ≈ 1 verändern, was zur Bildung von lokalen Löchern auf Eisenlegierungsflächen führt.

4.1.3. Eisenreduzierende Bakterien (IRB)

Die IRBs sind weniger wichtig als die eisenoxidierenden Bakterien, obwohl sie auch eine Rolle in der MIC spielen. Wenn IRBs zusammen mit SRB sind, werden Kohlenstoffstahl-Metallproben stärker beschädigt als in abiotischer Umgebung [49, 50].

Mehrere Arten von Mikroorganismen (Bakterien), darunter solche aus den Gattungen Pseudomonas und Shewanella, haben die Fähigkeit, Mg und/oder Fe-Oxide zu reduzieren, die auch die Korrosionsreaktionen beeinflussen können.

4.1.4. Pseudomonas aeruginosa

Dieses gramnegative Bakterium ist fast überall in der Umwelt zu finden; dies spielt auch bei der Initialisierung der MIC eine wichtige Rolle. Sie haften zuerst an Feststoffen (durch ihre Adhäsion beginnt die Biofilmbildung), und dann nutzen die anderen Mikroorganismen die Pionier Kolonien, um sich darauf zu stapeln. Die aeroben Schleimbildner Pseudomonas können den dünnen gallertartigen Film mit Korrosionsablagerungen auf Metalloberflächen bilden.

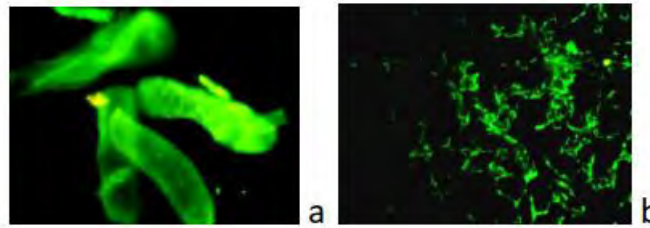


Abbildung 7. *Pseudomonas aeruginosa* a: einzelne Zellen; b: verstreut auf einer festen Oberfläche.

4.1.5. Schwefel-oxidierende Bakterien (SOB)

Schwefeloxidierende Bakterien sind Aerobier, die Energie gewinnen, indem sie die reduzierte Schwefelverbindung (z.B. H_2S) durch partielle Oxidation zu elementarem Schwefel (S^0) oder zu Sulfat (SO_4^{2-}) oxidieren, das im wässrigen Milieu Schwefelsäure (H_2SO_4) bildet. *Beggiatoa* und *Paracoccus* sind zwei klassische Beispiele für schwefeloxidierende Bakterien.

Diese aeroben schwefeloxidierenden Prokaryoten gehören zu Gattungen wie *Acidianus*, *Acidithiobacillus*, *Aquaspirillum*, *Aquifex*, *Bacillus*, *Beggiatoa*, *Methylobacterium*, *Paracoccus*, *Starkeya*, *Sulfolobus*, *Thermithiobacillus*, *Thiobacillus*, und *Xanthobacter*.

Die am meisten untersuchten Gattungen von SOBs (*Thiobacillus*, *Sulfolobus*, *Thermothrix*, *Beggiatoa* und *Thiothrix*), die die Sulfide biologisch oxidieren, sind Chemolithotrophe. *Thiobacillus ferrooxidans*, ein Acidophiler (aktiv im pH-Bereich von 1,0-2,5) und auch Thermophiler (bevorzugt Temperaturen von 45-50°C), oxidiert eisen- und schwefelhaltige Mineralien.

4.1.6. Schleimbildende Bakterien

Die Schleimbildner produzieren (in Anwesenheit oder Abwesenheit von Sauerstoff) eine Vielzahl von extrazellulären Matten aus hochdichtem Schleim, die eine feste Oberfläche teilweise oder ganz bedecken können. Ihre primären schädlichen Wirkungen beruhen auf dem Schutz von Anaerobiern und Aerobiern, auf der Entfernung von Metallionen durch Chelatbildung und auf der Bildung von porenverstopfenden Korrosionsprodukten. Bei der Bildung des Biofilms/der Biomasse verbrauchen aerobe Bakterien Sauerstoff, produzieren metabolische Nebenprodukte, die Nährstoffe für Anaerobier sind, und diese Prozesse schaffen echte anaerobe Umgebungen unter dem Biofilm.

4.1.7. Säureproduzierende Bakterien

Säureproduzierende Bakterien bilden organische und anorganische Säuren sowie Nährstoffe für andere Spezies, d.h. die erzeugten Fettsäuren werden von anderen Mikroorganismen (z.B. von SRBs) genutzt. In letzter Zeit werden säurebildende Bakterien als eine gefährlichere mikrobielle Spezies im Zusammenhang mit MIC erkannt, da sie durch ihre fermentativen Aktivitäten den lokalen pH-Wert innerhalb des Biofilms verändern und in den sauren Bereich verschieben.

Ein Beispiel für säurebildende Bakterien ist der *Thiobacillus thiooxidans*, der H_2SO_4 bildet, wenn die Korrosion voranschreitet und Wasserstoff in der kathodischen Reaktion freigesetzt wird.

5. Durch MIC beeinflusste Metalle

Ein wichtiges Thema ist die chemische Zusammensetzung von Baumaterialien, da sie die Anfälligkeit von Metallen für abiotische (chemische) und biotische (mikrobiologisch beeinflusste) Korrosion bestimmt. Die Oberfläche des metallischen Substrats spielt eine wesentliche Rolle in der frühen Phase der EPS und der Zellakkumulation/-distribution [51, 52].

Es ist schwierig, im Voraus zu sagen, an welcher Stelle der Metallverlust mit hoher Geschwindigkeit beginnt. Er hängt nicht nur von der Zusammensetzung der Legierungen ab,

sondern auch von der Art und Anzahl der Mikroben sowie von den allgemeinen Bedingungen (Temperatur, Nährstoffe für Bakterien, pH-Wert, Salzgehalt usw.).

Man sollte bedenken, dass die Stoffwechselprodukte (z. B. Sulfid, organische Säuren) die Grenzflächenchemie verändern und zu einer erhöhten Korrosionsrate führen, da EPS-, pH- und Gradienten des gelösten Sauerstoffs vorhanden sind, die zunächst zu lokalisierter (Lochfraß und Spaltkorrosion), später zu allgemeiner Korrosion, parallel zur Entlegierung, führen [53-55].

Zum anderen bildet ein Biofilm eine Diffusionsbarriere für bestimmte chemische Spezies (z.B. Sauerstoff, Nährstoffe und aggressive Ionen wie Chlorid) [56].

Aus wirtschaftlicher Sicht sind die MIC-Kosten sehr wichtig; sie betragen etwa 0,3-0,85 BIP. Die Hauptindustrien, die von MIC betroffen sind, sind die Papier- und Zellstoffindustrie, die Abfallbehandlung, die chemische und petrochemische Industrie sowie die Energiewirtschaft, um nur einige von ihnen zu nennen.

5.1. Aluminium und Aluminiumlegierungen

Aluminium, das häufig in Konstruktionen verwendet wird, insbesondere in der Luftfahrtindustrie, ist ein sehr nützliches Metall aufgrund der Widerstandsfähigkeit der Al_2O_3 -Passivschicht, die sich auf der Oberfläche bildet. Aber leider ist es sehr anfällig für lokale Korrosion, die durch verschiedene Ionen (z.B. Cl^-) und durch Mikroorganismen ausgelöst wird. An der Metalloberfläche beschleunigen die Mikroben die Auflösung und verändern die Metallzusammensetzung sowie die Korrosionsprozesse bei der Bildung von Biofilmen. Der Schimmelpilz *Homoconis resiniae* ist in Flugzeugtanks bekannt, da er den Treibstoff als Kohlenstoffquelle nutzt. Nicht nur das Myzel und die Stoffwechselprodukte können die Aluminiumlegierungen angreifen, sondern die auf der Oberfläche gebildete Biomasse kann die Filter verstopfen.

5.2. Eisen und Eisenlegierungen

Stähle werden aufgrund der auf ihren Oberflächen natürlich oder künstlich gebildeten Passivschichten häufig im industriellen Maßstab eingesetzt. Die nichtrostenden Stähle unterscheiden sich in den Sorten, in der Grundzusammensetzung, in der Verarbeitung und in der Oberflächenbehandlung. All diese Effekte beeinflussen die Oberflächeneigenschaften [57].

Was die Legierungsbestandteile betrifft, sind die folgenden Elemente wichtig:

1. Kohlenstoff: eine geringe Menge ist notwendig;
2. Chrom: erhöht die Härte, die Zähigkeit, bei 10,5% die Korrosionsbeständigkeit;
3. Mangan: erhöht die Härte, macht einen Stahl stabiler in der Abschreckung und weniger anfällig für Risse; neutralisiert die negative Wirkung von Schwefel;
4. Nickel: erhöht die Festigkeit, reduziert die Sprödigkeit und die Zähigkeit;
5. Molybdän: erhöht die Härte, die Zugfestigkeit, erhöht die Hemmung der gleichmäßigen und lokalen Korrosion;
6. Stickstoff, Kupfer: verringert deutlich die mikrobielle Adhäsion [58].

Legierungselemente, die die chemische Zusammensetzung und die Dicke des Passivfilms verändern, stabilisieren die schützende Oxidschicht und verändern die Anfälligkeit für MIC. Stahloberflächen sind aufgrund ihrer elementaren Zusammensetzung, kristallinen Homogenität und Oberflächenoxiden im Allgemeinen korrosionsbeständig. Wenn unerwünschte korrosionsrelevante Mikroorganismen vorhanden sind, können sie die Metallzerstörung durch Zerstörung der passiven Oxidschicht verstärken.

Sehr gute Veröffentlichungen fassen die Rolle der Legierungselemente bei MIC sowie die Parameter, die die mikrobielle Adhäsion beeinflussen, zusammen [59, 60].

Es besteht ein Zusammenhang zwischen der mikrobiellen Größe/Morphologie/EPS-Produktion und der Oberflächenrauigkeit der Metalle [61]. Positiv geladene Metalloxidoberflächen fördern die mikrobielle Anhaftung, da die Oberflächen der Mikroben im Allgemeinen negativ geladen sind.

Die Dauer der mikrobiellen Vermehrung beeinflusst ebenfalls die MIC. Auf Kohlenstoffstahl wird die mikrobielle Korrosion in der exponentiellen (log) Wachstumsphase beschleunigt und ist während der stagnierenden und abnehmenden Phase stabil. Nicht nur die Bakterienzahl, sondern auch die anfallenden Stoffwechselprodukte beeinflussen die Korrosionsgeschwindigkeit.

Die MIC von Kohlenstoffstahl wird hauptsächlich durch die Bildung biogener Sulfide (was zum Abbau der Passivschicht führt) beeinflusst, die von der kathodischen Depolarisation (durch Hydrogenase-Enzyme) gefolgt wird.

Der Angriff von korrosionsrelevanten Mikroorganismen auf Edelstahl 304 zeigt sich in lokaler Korrosion. Die Anwesenheit von Pseudomonas-Bakterien verändert die Zusammensetzung der Metalloberfläche; der Eisengehalt sinkt und der Chromgehalt steigt, worauf parallel das Auftreten von Mikrolöchern folgt. Das Molybdän in einer Konzentration >6% (rostfreie Stähle 316L) verringert die Möglichkeit von MIC.

Eine gute Zusammenfassung über den Einfluss der Legierungselemente (Cr, Ni, Mo, Ru) auf die mikrobielle Adhäsion und Biofilmbildung wurde veröffentlicht, und der mikrobiologische Angriff und die Biofilmbildung (visualisiert mit Licht- und Rasterkraftmikroskopen) wurden mit der Konzentration der Legierungselemente korreliert [62]. Die Daten bewiesen eindeutig, dass nicht nur der bestimmte Gehalt an Legierungselementen, sondern auch deren Verhältnis die erste mikrobielle Adhäsion, die Biofilmdicke und die chemische Zusammensetzung der Oberflächenoxidschicht beeinflusst und gleichzeitig auch die Empfindlichkeit gegenüber mikrobieller Adhäsion verändert wird. Das Vorhandensein von Mo im Stahl erhöht nicht nur die Korrosionsbeständigkeit drastisch, sondern vermindert/hemmt auch die mikrobiologische Adhäsion. 3D-Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen haben die Veränderung der Kompaktheit der Oxidschicht durch die Anwesenheit von Molybdän bewiesen, was die besondere Rolle von Mo bei MIC erklären kann.

5.3. Kupfer und Kupferlegierungen

Diese Metalle werden häufig in Kühlsystemen, in Wärmetauschern (Chemie- und Kernkraftindustrie) eingesetzt. Die Kupferionen können das mikrobielle Wachstum eindämmen, aber korrosionsrelevante Mikroorganismen können das Metall angreifen und Biofilme können auf seiner Oberfläche wachsen [63].

5.4. Titan

Das Titan ist ein sehr korrosionsbeständiges Metall. Das ist der Grund, warum es in hochkorrosiver Umgebung, auch in Körperflüssigkeit, eingesetzt werden kann, aber Mikroorganismen können sich an seiner Oberfläche festsetzen und einen Biofilm bilden [64].

6. Techniken zur Überwachung und Auswertung von MIC [65]

Die Zusammenarbeit verschiedener Experten ist wichtig, um die MIC zu untersuchen. Die mikrobiologisch beeinflusste Korrosion sollte mit mikrobiologischen Methoden untersucht werden, um die Mikroben zu identifizieren, die an der korrosiven Verschlechterung beteiligt sind. Der nächste Schritt ist die Kombination der mikrobiellen Tests mit oberflächenanalytischen Methoden sowie mit elektrochemischen Untersuchungen. Zu den Techniken, die für den Nachweis und die Überwachung von MIC eingesetzt werden, gehören konventionelle elektrochemische Gleichstrommethoden (DC), elektrochemische Wechselstromimpedanzspektroskopie (EIS), optische und Elektronenmikroskopie, Rasterkraftmikroskopie (AFM), Fourier-Transformations-Infrarotspektrometrie (FTIR), Scanning Vibrating Electrode Mapping (SVEM), konzentrische Elektrodentechnik, Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS) und Auger-Elektronenspektroskopie (AES), um nur einige zu nennen [53, 66, 67].

Weitere wichtige Daten zu den wichtigsten Betriebsparametern bei MIC sind: Durchflussrate, Temperatur, Druck, Molchhäufigkeit, chemische Behandlungshistorie sowie die physikalisch-chemische und chemische Zusammensetzung der Flüssigkeit, die alle direkt oder indirekt die MIC beeinflussen.

6.1. Elektrochemische Methoden zur Untersuchung der MIC

Es gibt mehrere sehr gute Zusammenfassungen über die Vor- und Nachteile der elektrochemischen Methoden, die zur Untersuchung der MIC verwendet werden [68, 69]. Elektrochemische Methoden, die in der MIC-Forschung eingesetzt werden, können in Hauptgruppen unterteilt werden:

- es wird kein externes Signal angelegt (z. B. Messung des Redoxpotentials (E_{r-o}) oder des Korrosionspotentials (E_{corr}), sowie die elektrochemische Rauschanalyse (ENA));
- eine kleine Potenzial- oder Stromstörung wird angelegt (z. B. Polarisationswiderstand (R_p) und elektrochemische Impedanzspektroskopie (EIS));
- das Potenzial wird über einen weiten Bereich gescannt (z. B. anodische und kathodische Polarisationskurven, zyklische Voltammetrie).

Die bei allen elektrochemischen Verfahren verwendeten Elektroden messen den Strom und/oder die Spannung, um die Korrosionsrate abzuschätzen. Die Oberfläche der Elektrode verändert sich im Laufe der Messungen durch die Bildung einer elektrischen Doppelschicht auf der Elektrodenoberfläche. Zusätzlich bilden die Zellen des Gefäßes in Anwesenheit von Mikroorganismen einen Biofilm, dessen Dicke sich kontinuierlich verändert. Dies ist der Grund für die parallele Anwendung mehrerer verschiedener elektrochemischer Techniken, um genauere Ergebnisse über die Oberflächenreaktionen zu erhalten, die helfen, den Mechanismus der MIC zu erklären [67-70].

Die verschiedenen elektrochemischen Techniken werden im Folgenden kurz zusammengefasst.

6.2. Methoden ohne externes Signal

6.2.1. Redox-Potential

Es misst die Oxidationskraft der Umgebung. Die Potentialänderung der vorpassivierten Platinelektrode in die positive Richtung ist die Folge entweder der Erhöhung der Sauerstoffkonzentration oder der Senkung des pH-Wertes.

Mikroorganismen können durch ihre Anwesenheit oder durch ihre Stoffwechselaktivität den lokalen physikalisch-chemischen Zustand an der Grenzfläche zwischen Metall und Umgebung drastisch verändern, was für die Auslösung und Beschleunigung der lokalen Korrosion verantwortlich ist [71, 72].

Der Vorteil dieser Technik ist, dass sie sowohl im Labor als auch in Feldversuchen eingesetzt werden kann. Aber diese Methode gibt keine numerische Information über die Korrosionsrate. Außerdem beeinflusst die Eintauchzeit (Besiedlung der Elektrodenoberfläche) das Ergebnis.

6.2.2. Korrosionspotential (E_{corr})

Der einfachste elektrochemische Test ist die Überwachung des Korrosionspotentials, aber er gibt die wenigsten Informationen über den Mechanismus der MIC, da die Referenzelektrode wegen der kontinuierlichen Biofilmbildung nicht stabil ist. Es ist nicht einfach, E_{corr} zu interpretieren [72, 73].

Er misst gleichzeitig die anodischen und kathodischen Prozesse, aber nur die Trends konnten bewertet werden [55].

6.2.3. Elektrochemische Rauschanalyse (ENA)

Bei der elektrochemischen Rauschanalyse werden die Potential- und Stromschwankungen gleichzeitig gemessen. Es werden keine externen Signale angelegt, die die Biofilmbildung und deren Eigenschaften beeinflussen könnten. Diese Technik gibt die genauesten und realistischsten Informationen über die durch Mikroorganismen verursachte Korrosion, aber die Interpretation der Kurve ist nicht einfach [74].

6.2.4. Mikro-Sensoren

Mikrosensoren, Mikroelektroden sind wichtige Werkzeuge in der Biofilmforschung, weil sie über die lokalen Umgebungen informieren und die lokalen Wechselwirkungen mit hoher räumlicher Auflösung auf der Mikroskala messen.

Im Biofilm werden durch die Anwesenheit und die Stoffwechselaktivität der Mikroorganismen Chemikalien produziert. Deren Konzentrationsprofile liefern nützliche Informationen über die mikrobielle Aktivität und über den Stofftransport.

Die meisten Mikrosensoren, die in der Biofilmforschung eingesetzt werden, sind amperometrische Mikrosensoren, die die Konzentrationen von gelösten Gasen, Ionen sowie organischen und anorganischen Molekülen messen können. Die wichtigsten Eigenschaften der Mikrosensoren sind die Spitzendurchmesser, Sensoroberflächen (für eine optimale räumliche Auflösung), Rauschpegel, Stabilität und Selektivität [75].

Mikrosensoren wurden verwendet, um Profile von Biofilmen mit gemischten Spezies zu erstellen [76].

6.2.5. Zweizellen-Technik

Bei dieser Technik trennt eine semipermeable Membran zwei identische elektrochemische Zellen. Die Doppelzelle ermöglicht die kontinuierliche Überwachung von Veränderungen der Korrosion, die durch die Anwesenheit von Mikroben und des Biofilms verursacht werden [77].

In einer der Zellen befinden sich Bakterien, und das Vorzeichen und die Größe des resultierenden galvanischen Stroms werden überwacht, um die bakterielle Aktivität anzuzeigen. Die Zweizellen-Technik gibt keine Auskunft über die konkrete Korrosionsrate, sondern überwacht die Änderungen der Korrosionsrate aufgrund der Anwesenheit des Biofilms.

6.2.6. Kapazität

Mit dem galvanostatischen Einschwingverfahren kann die Kapazität bestimmt werden. Ein Konstantstromimpuls erzeugt ein Überspannungs-Zeitverhalten. Der angelegte Strom (I_{app}) erzeugt eine kathodische Überspannung (η). Nach der Verstärkung durch einen hochohmigen Differenzverstärker werden die Signale per Computer aufgezeichnet [72, 73].

6.3. Methoden zum Anlegen eines kleinen externen Signals

6.3.1. Elektrochemische Impedanzspektroskopie (EIS)

Die EIS-Technik zeichnet Impedanzdaten als Funktion einer Signalfrequenz auf, die an ein festes Elektrodenpotential angelegt wird. Im Allgemeinen wird ein großer Frequenzbereich untersucht [78]. Diese Technik liefert Informationen über die Eigenschaften (Kompaktheit, Porosität) der auf der Elektrodenoberfläche gebildeten Schicht, indem die Polarisationswiderstandswerte analysiert werden, was Aufschluss über den Einfluss der Mikroorganismen gibt.

6.3.2. Polarisationswiderstand (R_p) Methode

Durch die Messung von R_p kann die Korrosionsrate eines beliebigen Metalls kontinuierlich überwacht werden [79]. Die genaue Berechnung von i_{corr} für eine bestimmte Zeit erfordert die gleichzeitige Messung von R_p und der anodischen und kathodischen Tafelsteigung (b_a und b_c). Moderne Geräte sind in der Lage, die genauen Werte von i_{corr} zu bestimmen. Eine Vereinfachung der Polarisationswiderstandstechnik ist die lineare Polarisationsstechnik [80]. Signifikante Schwankungen von R_p mit der Zeit werden oft bei Systemen beobachtet, die Lochfraß oder Spaltkorrosion erfahren, da die R_p -Daten hauptsächlich bei allgemeiner oder gleichmäßiger Korrosion anwendbar sind und weniger bei lokalisierter Korrosion, einschließlich MIC. Die schnelle und einfache Interpretation dieser Ergebnisse ist der Vorteil der Polarisationswiderstandsmethode. Sie zeigt eine gute Korrelation mit den Ergebnissen der gravimetrischen Methode.

6.4. Methoden mit Großsignalpolarisation

Diese Techniken erfordern Potentialabtastungen im Bereich von einigen hundert Millivolt bis zu mehreren Volt. Potentiostatische oder potentiodynamische Polarisationskurven sowie Pitting-Scans verwenden Großsignalpolarisation [81]. Polarisationskurven können zur Bestimmung von Korrosionsströmen (i_{corr}) durch Tafel-Extrapolation verwendet werden. Informationen können aus experimentellen Werten der anodischen und kathodischen Tafel-Steigungen (b_a und b_c) gewonnen werden. Pitting-Scans werden verwendet, um das Pitting-Potenzial (E_{pit}) und das Schutzpotenzial (E_{prot}) zu bestimmen.

Mit Hilfe von Polarisationskurven können die Auswirkungen der auf Metalloberflächen siedelnden Mikroorganismen auf die elektrochemischen Prozesse bestimmt werden [53]. Der Vorteil dieser Technik ist, dass sie unter Labor- und Feldbedingungen eingesetzt werden kann und die Interpretation der Daten einfach ist. Aufgrund des großen Polarisationssignals kann es jedoch durch das Anlegen großer anodischer oder kathodischer Potentiale zu irreversiblen Veränderungen der Oberflächeneigenschaften kommen (die das mikrobielle Verhalten, das Wachstum und die Vermehrung sowie die Biofilmbildung beeinflussen können).

7. Oberflächenanalytische Methoden

7.1. Mikroskopische Verfahren

Die Mikroskopie (Licht-, Elektronen- und Rastersondenmikroskopie) hat Vor- und Nachteile, obwohl in den letzten Jahrzehnten die mikroskopischen Methoden hinsichtlich der Wechselwirkung von Mikroorganismen mit Oberflächen verbessert wurden [83].

Die Visualisierung von Mikroorganismen ist nicht sehr einfach, da sie während der Vermehrung ihre Größe und Form verändern, Chemikalien ausscheiden. Ihr Oberflächencharakter ändert sich ständig, was auf die EPS-Produktion zurückzuführen ist. Bei der MIC-Untersuchung werden hauptsächlich drei mikroskopische Techniken eingesetzt. Die konfokale Lasermikroskopie, die Rasterelektronenmikroskopie zusammen mit der Umgebungsrasterelektronenmikroskopie und der Rasterkraftmikroskopie; alle ermöglichen die Visualisierung der Mikroorganismen und die Beobachtung der Biofilmbildung in Echtzeit. Es gibt weitere mikroskopische Techniken, die zur Visualisierung von MIC entwickelt wurden. [84].

7.1.1. Rasterelektronenmikroskopie (SEM), Umwelt-Rasterelektronenmikroskopie (ESEM)

SEM erzeugt Bilder einer Probe, indem es diese mit einem fokussierten Elektronenstrahl abtastet. Ein traditionelles SEM kann Bilder entweder durch rückgestreute und/oder durch sekundäre Elektronen erzeugen; und zusätzlich kann Röntgenstreuung über die chemische Zusammensetzung der Festkörperoberfläche informieren [85].

SEM erzeugt zwar fotografische Informationen über eine Probe, kann aber die Probenoberfläche nicht quantitativ charakterisieren. SEM arbeitet unter Hochvakuum, was bei der Untersuchung von MIC ein erheblicher Nachteil ist, da die Mikroorganismen und das sie umgebende EPS dehydriert werden.

Das ESEM wurde durch eine wesentliche Veränderung des SEM entwickelt, bei dem nur ein Teil der Elektronen die Probe abtastet und das die Messung bei weniger hohem Vakuum (bei höherem Druck) ermöglicht. Dies ermöglicht, dass die Proben mit dem ESEM in ihrem natürlichen Zustand gemessen werden, was die Visualisierung von biologischen Proben in natürlicher Form erleichtert. ESEM ist ein nützliches Werkzeug, um die reale Struktur von Biofilmen, also von Zellen, die in extrazellulären Matrices auf festen Oberflächen eingebettet sind, zu demonstrieren [86].

7.1.2. Rasterkraftmikroskopie (AFM)

Die Rasterkraftmikroskopie basiert auf der Messung der Kraft zwischen der Abtastspitze und der zu untersuchenden Probenoberfläche. Aus der Sicht des MIC werden vor allem die 3D-Bildgebung (die wichtige Informationen über die Form, Länge, Breite, den äußeren Teil der mikrobiellen Zellen liefert) und die Kraftmessungen verwendet. [88, 89].

Der Vorteil des AFM gegenüber dem SEM ist die höhere Auflösung und vor allem, dass es kein Hochvakuum benötigt. Die Messung erfolgt entweder im Kontakt- oder im berührungslosen Modus, und zusätzlich im Tapping-Modus, was bei weichen, biologischen Proben sehr vorteilhaft ist. AFM ist in der Lage, die Topographie von Bakterien, Biofilmen und korrodierten Stahloberflächen hochauflösend abzubilden und die lokalisierte Korrosion durch die sogenannte "Schnittanalyse" zu quantifizieren [90-94] (Abbildung 4,8).

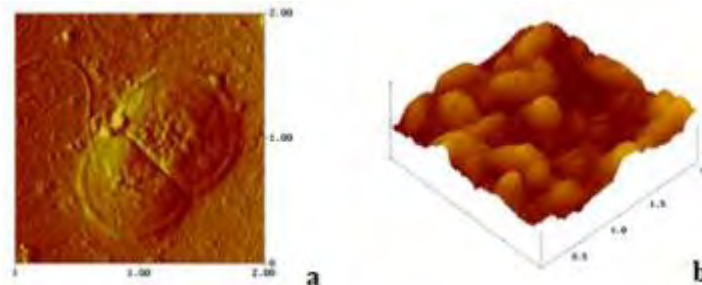


Abbildung 8. Mit AFM visualisierte Mikroorganismen; a: Spaltung einer Aerobe, ihr Flagellum ist gut sichtbar; b: Desulfovibrio desulfuricans-Zellen auf einer festen Oberfläche ($z = 300$ nm).

7.1.3. Konfokale Laser-Mikroskopie (CLM)

CLM wird häufig in den biologischen Wissenschaften eingesetzt. Ein Laserlicht liefert intensives, kohärentes, kollimiertes Licht, das notwendig ist, um in eine dicke Probe einzudringen. Das Laserlicht regt Fluorophore an. Bilder der x-y-Ebene (parallel zur Oberfläche) werden automatisch aufgenommen, während ein computergesteuerter Schrittmotor die z-Dimension (Tiefe) verändert. Das CLM liefert 3D-Strukturen im Mikrometerbereich und zeigt die Biofilmarchitektur im nativen Zustand: hydratisierte, lebende Zellen innerhalb der exopolymere Matrix [95].

7.1.4. Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM)

Ein Laserstrahl, der die Oberfläche passiert und Fluorophore anregt, wird durch eine Objektivlinse auf einen Bereich der Probe fokussiert, und die emittierten Photonen, die von der Probe gesammelt werden, bilden Bilder in 3D über die vorgewählte Tiefenebene und Zeit. Das CLSM eignet sich für die In-situ-Untersuchung von Biofilmen und die Überwachung ihrer Bildung. Die Bedeutung dieser Methode liegt darin, dass die Mikroorganismen in ihrer lebensfähigen Form visualisiert werden; auch die Verteilung der Mikroben innerhalb des Biofilms wird überwacht. Zusätzlich kann die Visualisierung der Interaktion von Bakterien (oder anderen, korrosionsrelevanten Mikroorganismen) mit der festen Oberfläche zum Verständnis der MIC beitragen und sie ermöglicht die kinetische Untersuchung der MIC [96].

7.1.5. Konfokale Raman-Mikroskopie (CRM)

Die spektrale Information der konfokalen Mikroskopie kann Absorption, Reflexion, Transmission, Emission, Photolumineszenz, Fluoreszenz oder Raman-Spektroskopie sein. In den 1990er Jahren wurde die Mikro-Raman-Spektroskopie entwickelt. Der Vorteil dieses Mikroskops ist die hohe Sammeleffizienz des Raman-Signals. Diese Technik konnte aus jedem Spektrum die relevanten chemischen Informationen extrahieren und eine Karte über die Verteilung der chemischen Komponenten mit einer lateralen Auflösung von wenigen Mikrometern erstellen [97].

In biologischen Proben mit mikrobiellen Zellen können Infrarotspektren Aufschluss über zelluläre Bestandteile geben. Der Vorteil dieser Technik ist, dass sie sowohl im Labor als auch unter industriellen Bedingungen anwendbar ist und keine Probenvorbereitung benötigt. Die Nützlichkeit dieser Methode wurde von mehreren Forschergruppen nachgewiesen [98-100].

7.2. Piezoelektrische Methoden: Quarzkristall-Mikrowaage (QCM)

QCM nutzt akustische Wellen, die durch die Schwingung einer piezoelektrischen, einkristallinen Quarzplatte erzeugt werden, um Massenänderungen zu messen. QCM ist ein empfindliches gravimetrisches Werkzeug, das in Biofilm- und MIC-bezogenen Studien eingesetzt werden kann. Der Vorteil des QCM ist die hohe Empfindlichkeit ($\text{ng}\cdot\text{cm}^{-2}$) und die kontinuierliche in situ Datenerfassung. Es handelt sich um eine zerstörungsfreie Überwachungstechnik, die mit anderen Methoden wie Voltammetrie, EIS, optischer Spektroskopie usw. kombiniert werden kann. QCM als gravimetrisches Werkzeug kann die Kinetik der bakteriellen Massenakkumulation während der Biofilmbildung überwachen [101-105].

Die Einschränkung dieser Technik liegt in der viskoelastischen Natur von Biofilmen. Dies war der Grund für die Entwicklung einer modifizierten Quarzkristallmikrowaage mit Dissipationsmodus (QCM-D). Die zeitabhängigen Änderungen der Dissipationsenergie (ΔD) und der Kristallfrequenz (Δf) sagen das Adhäsionsverhalten von Bakterien voraus, was es erlaubt, die mikrobielle Interaktion und die Adhäsionsprozesse mit der festen Oberfläche zu verfolgen [106].

Obwohl das QCM ein einfach zu bedienendes, kostengünstiges Gerät ist, wird es in Forschungslaboratorien nicht umfassend zur Untersuchung von Biofilmen und MIC-verbundenen Mikroorganismen eingesetzt.

7.3. Spektroskopische Analysemethoden

Im Hinblick auf die Problematik rund um MIC sind zwei Methoden diskussionswürdig: Die Fourier-Transform-Infrarot-Spektroskopie und die Röntgen-Photoelektronen-Spektroskopie.

7.3.1. Fourier-Transformations-Infrarot-Spektroskopie (FTIR)

Die Anwendbarkeit der FTIR bei der Untersuchung von Biofilmen wurde vor mehr als 20 Jahren erkannt, als man feststellte, dass mit dieser Technik die Mikroorganismen auf nicht-invasive Weise als Fingerabdrücke von Mikroorganismen identifiziert werden können.

Die in der MIC-Studie interessante Wellenlänge liegt zwischen 2,5 und 20 μm (im mittleren Infrarotbereich). Die Adsorptionsbanden, ausgedrückt in Wellenzahlen, sind proportional zur absorbierten Energie. Im Spektrum sind die funktionellen Gruppen im Bereich von 4000 und 1500 cm^{-1} vertreten und die Deformations-, Biege- und Ringschwingungen liegen unter 1500 cm^{-1} . Dieser Bereich könnte der "Fingerabdruck" von Molekülen sein.

In einer Durchflusszelle wurden die Adhäsionsmechanismen zwischen dem Biofilm und der festen Oberfläche analysiert und es konnte nachgewiesen werden, dass der Bindungsprozess durch das EPS initialisiert wird. Die Mikroorganismen konnten allein oder eingebettet in EPS analysiert werden [107-109].

Der Nachteil der FTIR-Technik bei der MIC-Analyse ist, dass sie nicht zwischen lebenden und toten Zellen unterscheiden kann und der hohe Wassergehalt des Biofilms das Spektrum stört.

7.3.2. Röntgen-Photoelektronen-Spektroskopie (XPS)

Die Proben werden in eine Ultrahochvakuumkammer gelegt und mit Röntgenstrahlung bestrahlt, die zur Bildung von Photoelektronen führt. Diese Photoelektronen mit ihren charakteristischen Energien stellen die Atome dar. Die Intensitäten der Spektren sind proportional zur Konzentration der Atome und zeigen deren Oxidationszustände an, d. h. das XPS-Spektrum gibt Auskunft über die Oberflächenzusammensetzung und über deren chemische Zustände [110, 111].

XPS kann auch Auskunft über die mikrobielle Zelloberflächenzusammensetzung geben, die hauptsächlich drei Molekülklassen wie Polysaccharide, Peptide und kohlenwasserstoffähnliche Verbindungen repräsentiert. XPS-Messungen an anaeroben Biofilmen von SRB zeigten die sauerstoffarmen Bereiche, in denen die Sulfatreduktion zu Sulfidionen durch SRB führte, die eine Ausdünnung des Passivfilms und die Initiierung von Lochfraß verursachten [112]. Bei der Erforschung von MIC besteht der Nachteil der XPS-Technik darin, dass sie ein Ultrahochvakuum benötigt, bei dem die hydratisierten Proben dehydriert werden, und sie ist nicht unter industriellen Bedingungen anwendbar.

8. Mechanismen der Biokorrosion

Der Mechanismus der MIC hängt von den Arten der mit der Korrosion assoziierten Mikroben, von ihren Stoffwechselprodukten, von der Zusammensetzung der EPS und von ihren Exo-Enzymen ab. Es ist wichtig zu betonen, dass eine multikulturelle mikrobielle Kolonie eine viel höhere Korrosionsrate verursacht als eine reine korrosionsrelevante mikrobielle Kultur.

Es gibt mehrere Beschreibungen der MIC-Mechanismen. Die wichtigste Reaktion ist die anodische Metallauflösung; und die Reduktion an der Kathode. Um die Metall-Mikroben-Interaktion zu verstehen, muss man berücksichtigen, dass sich unter verschiedenen Bedingungen feste Ausscheidungen bilden können. Die anaeroben Mikroorganismen produzieren Sulfid-Ionen, was zur Bildung von unlöslichem Eisensulfid führt. Wenn Sauerstoff vorhanden ist, produzieren aerobe Mikroben feste Metalloxide/Hydroxide. Nach der Elektronentransfer-Hypothese könnte ein Elektronentransfer durch das EPS vom Metall zum Elektronenakzeptor, d.h. zum Sauerstoff, stattfinden. Sowohl im Biofilm eingebettete Enzyme als auch an bakterielle EPS gebundene Metallionen können die kathodische Reaktion katalysieren. Lange Zeit wurde angenommen, dass die wasserstoffverbrauchenden Enzyme die Korrosionsrate erhöhen. Jetzt ist es offensichtlich, dass es auch andere Enzyme (z.B. zelluläre Katalysatoren) gibt, die die MIC beeinflussen. In der klassischen Theorie erhöhen die sulfatreduzierenden Bakterien die Korrosionsrate durch den Elektronentransport von der Metalloberfläche zum mikrobiellen Sulfatreduktionsweg. Die wichtige Rolle der Hydrogenase-Enzyme bei der anaeroben MIC wird erneut bestätigt.

King und Miller schlugen 1971 [113] einen anderen interessanten Mechanismus vor. Sie betonten, dass das feste Eisensulfid der Absorber für den molekularen Wasserstoff ist. Der mit Eisensulfid bedeckte Bereich stellt die Kathode dar, und der Biofilm verhält sich wie eine Anode. Dies führt zu einer hohen galvanischen Korrosionsrate mit erhöhter Eisenauflösung. Romero hat 2005 [114] den Mechanismus von sulfatreduzierenden Bakterien bei MIC von Eisen herausgearbeitet. Nach seiner Theorie erfolgt zunächst die bakterielle Adsorption und Eisensulfidproduktion und dann eine mikrogalvanische Zellbildung durch die metallische Oberfläche und das Eisensulfid. In der zweiten Stufe befinden sich die Bakterien und die Anorganika im Gleichgewicht. Die dritte Stufe wird durch den lokalen pH-Wert gesteuert, das Pyrit wird zu Mackinawit reduziert und eine starke lokale Korrosion beginnt. Galvanische Korrosion entsteht zwischen dem anodischen Metall und dem kathodischen Eisensulfid mit unterschiedlicher Zusammensetzung (ohne Wasserstoffpermeation aufgrund der Barrierewirkung des EPS). Dies ist charakteristisch für die Mikroorganismen in der exponentiellen Wachstumsphase, wodurch genügend Schwefelwasserstoff-Ionen entstehen. Die wichtigsten Schritte sind die Biofilmbildung und die Stabilisierung durch Wasserstoffpermeation, Sulfidierung und lokalisierte galvanische Korrosion.

Nach dem kürzlich beschriebenen MIC-Mechanismus auf Edelstahl in Gegenwart eines von sulfatreduzierenden Bakterien gebildeten Biofilms findet die Eisenoxidation an der Außenseite der sessilen Zellen statt, während die Nutzung der durch den Oxidationsprozess freigesetzten Elektronen zur Sulfatreduktion im Zytoplasma der Bakterienzelle erfolgt. In diesem Fall wird der zellwandübergreifende Elektronentransfer durch einen elektrogenen Biofilm erreicht. Es ist klar, dass der wichtigste Schritt bei MIC der Elektronentransfer ist. Sowohl das Riboflavin als auch das Flavin-Adenin-Dinukleotid, zwei gängige Elektronenvermittler, verbessern den Elektronentransfer und beschleunigen die Lochfraßkorrosion (Abbildung 9)].

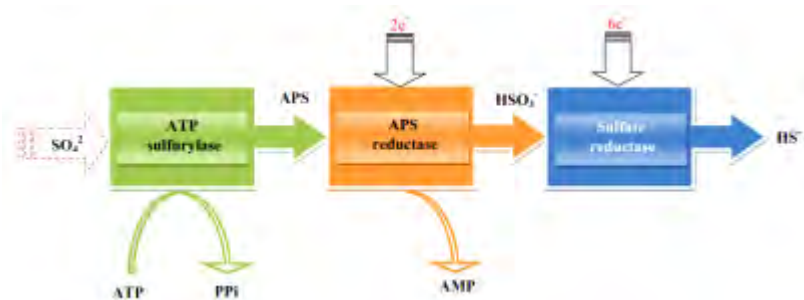


Abbildung 9. Mikrobielle Reduktionen von Sulfat-Ionen zu Sulfid [115].

In der neuesten Übersichtsarbeit über die MIC-Mechanismen werden das Konzept der Bioenergetik, Elektronentransfertheorien und Respirationstypen diskutiert. Wenn in einer Umgebung eine Kohlenstoffquelle und andere Elektronendonatoren fehlen, die für den Energiestoffwechsel notwendig sind, können die Mikroorganismen elementares Eisen oder andere energetische Metalle als Elektronendonatoren nutzen. Dies führt zu MIC. Nach den mikrobiellen Respirationstypen werden zwei Haupttypen der anaeroben MIC auf Metallen unterschieden. Die eine ist die extrazelluläre Elektronentransfer-MIC (EET-MIC) und die andere die metabolische MIC (M-MIC). Diese Erklärungen zeigen, wie MIC-Prozesse ablaufen und wie sie von den Umweltbedingungen abhängig sind. Die Merkmale der EET-MIC- und M-MIC-Mechanismen liefern nützliche Einblicke in MIC durch sulfatreduzierende, nitratreduzierende und säureproduzierende Bakterien, die bei den anaeroben MIC-Prozessen dominieren [116, 117].

9. Zusammenfassung

Ziel der Arbeit war es, eine besondere Art der Korrosion, nämlich die mikrobiologisch beeinflusste Korrosion, vorzustellen und zu erläutern, dass es sich hierbei nicht um eine neue Art der Metallkorrosion handelt, sondern dass die Mikroorganismen durch ihre Anwesenheit, durch die ausgeschiedenen Stoffwechselprodukte mit aggressiven Bestandteilen (Sulfide, organische und anorganische Säuren etc.) und durch die klebstoffartigen exopolymeren Substanzen die chemische und elektrochemische Korrosionsrate erhöhen. Die korrosionsrelevanten Mikroben (sowohl die Anaerobier als auch die Aerobier) wurden eingeführt und charakterisiert, und ihre korrosionsfördernde Aktivität wurde nachgewiesen. Die Bildung von Biofilmen -gebaut aus Mikroorganismen, mit hohem Wasser- und anorganischem und organischem Materialgehalt- wurde verfolgt und die Bedeutung der in der Biomatrix aufgebauten Mikroorganismen erläutert. Es wurden verschiedene Messtechniken vorgestellt, die bei der Erforschung der MIC nützlich sind, mit Betonung auf ihre Vor- und Nachteile bei der Untersuchung der MIC. Die Entwicklung in der Erklärung der MIC-Mechanismen, d.h. die Geschichte des Angriffs der korrosionsrelevanten Mikroben, wird auch in den Beitrag einbezogen, was aufzeigt, wie komplex die mikrobielle Korrosion ist.

Referenzen:

1. J.H. Garrett, The action of water on lead, 1891, H.K. Lewis, London.
2. R.H. Gaines, Bacterial Activity as a Corrosive Influence in the Soil, *J. Ind. Eng. Chem. (Washington, D. C.)*, 1910, 2, 128–130. doi: 10.1021/ie50016a003
3. C.A.H. Von W. Kühr and L.S. van der Vlucht, Graphitization of cast iron as an electro-biochemical processes in anaerobics, *Water*, 1934, 18, no. 16, 147.
4. E. Miranda, M. Bethencourt, F.J. Botana, M.J. Canob, J.M. Sanchez-Amaya, A. Corzoc, J. Carciade Lomasc, M.L. Fardeaua and B. Olliviera, Biocorrosion of Carbon steel alloys by an Hydrogenotrophic Sulfat-Reducing Bacterium *Desulfovibrio capillatus* isolated from a Mexican Oil Field Separator, *Corros. Sci.*, 2006, 48, 2417–2431. doi: 10.1016/j.corsci.2005.09.005
5. E.S. Bastin, F.E. Greer, C.A. Merritt and G. Moulton, The presence of sulfate-reducing bacteria in oil field waters, *Science*, 1926, 63, 21–24. doi: 10.1126/science.63.1618.21
6. C.E. Zobell, The Effect of Solid Surfaces upon Bacterial Activity, *J. Bacteriol.*, 1943, 46, 39–56.
7. H.A. Videla, *Manual of Biocorrosion*, 1996, CRC Press: Boca Raton, FL, pp 272.
8. B.J. Little and J.S. Lee, Microbiologically influenced corrosion: an update, *Int. Mater. Rev.*, 2014, 59, no. 7, 384–393. doi: 10.1179/1743280414Y.0000000035.
9. W.G. Charaklis, M.J. Nimmons, B.F. Picoulouglou, Biofilms and microbial fouling, *Adv. Appl. Microbiol.*, 1983, 29, 93–138. doi: 10.1016/S0065-2164(08)70355-1
10. W.G. Charaklis, M.J. Nimmons and B.F. Picoulouglou, Influence of fouling biofilms on heat transfer, *Heat Transfer Eng.*, 1981, 3, 23–37. Published online: 27 Mar. 2007. doi: 10.1080/01457638108939572
11. B.E. Christensen and W.G. Charaklis, *Biofilms*, 1990, J. Wiley, N.Y., 796.
12. A.M. Rouhi, The Squeeze On Tributyltins, *Chem. Eng. News*, 1998, 76, 41–42. doi: 10.1021/cen-v076n017.p041
13. J.V. Costerton, K.-J. Cheng, J.C. Nickel, M. Dasgupta, T.J. Marie, G.G. Geesey and T.I. Ladd, Bacterial biofilms in nature and disease, *Annu. Rev. Microbiol.*, 1987, 41, 435–434. doi: 10.1146/annurev.mi.41.100187.002251
14. H.-C. Flemming, T. Griebe and G. Schaule, Antifouling strategies in technical systems — A short review, *Water Sci. Technol.*, 1996, 34, 517–524. doi: 10.1016/0273-1223(96)00687-7
15. A.W. Decho, Microbial exopolymer secretions in ocean environments: their role(s) in food webs and marine processes, *Biol. Annual. Rev.*, 1990, 28, 73–153.
16. P.A. Wilderer and W.G. Charaklis, *Chemistry of Aquatic Systems: Local and Global Perspectives*, Dahlem Workshop, 1988, J. Wiley & Sons, 5–17.
17. H.G. Hoppe, in: *Microbial Adhesion and Aggregation*, Springer Verlag, Berlin, Ed.: K.C. Marshall, 1984, 283–301.
18. J.-H. Chen, L.W. Lion, W.C. Ghiorse and M.L. Shuler, Mobilization of adsorbed cadmium and lead in aquifer material by bacterial extracellular polymers, *Water Res.*, 1995, 29, 421–430. doi: 10.1016/0043-1354(94)00184-9
19. Jahn and P.H. Nielsen, Cell biomass and exopolymer composition in sewer biofilm, *Wat. Sci. Technol.*, 1998, 37, 17–24. doi: 10.1016/S0273-1223(97)00751-8
20. S. Comte, Interactions entre des exopolymeres extraits de biomasses epuratoires et les metaux, THESE N° 2005-53, Docteur de l'Universite de Limoges, 2005.
21. R.M. Donlan, Biofilms: Microbial Life on Surfaces, *Emerging Infect. Dis.*, 2002, 8, no. 9, 881–890. doi: 10.3201/eid0809.020063
22. P.G. Rouxhet and N. Mozes, Physical chemistry of the interaction between attached microorganisms and their support, *Water Sci. Technol.*, 1990, 22, 1–16. doi: 10.2166/wst.1990.0131
23. J.H. Pringle and M. Fletcher, Influence of substratum wettability on attachment of freshwater bacteria to solid surfaces, *Appl. Environ. Microbiol.*, 1983, 45, 811–817.
24. D.J. Uhligier and D.C. White, Relationship between physiological status and formation, *Appl. Environm. Microbiol.*, 1988, 45, 64–67.

25. B. Frølund, T. Giebe and P.H. Nielsen, Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1995, 43, 755–761.
26. W.G. Charaklis, "Microbial Fouling Control" in: *Biofouling*, Eds.: W.G. Charaklis and K.C. Marshall, J. Wiley, N.Y, 1990.
27. *Microbial Biofilms: Current Research and Applications*, Eds: G. Lear and G.D. Lewis, Caister Academic Press, New Zealand, 2012, ISBN: 978-1-904455-96-7.
28. H.C. Flemming, J. Wingender, R. Moritz, W. Borchard and C. Mayer, Physico-chemical properties of biofilms: a short review, *Biofilms in the aquatic environment*, Eds.: C.W. Keevil, A. Godfree, D. Holt and C. Dow, Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry, 1999, 1–12.
29. P. Stoodley, K. Sauer, D.G. Davies and J.W. Costerton, Biofilms as complex differentiated communities, *Annu. Rev. Microbiol.*, 2002, 56, 187–209.
30. A.I. Railkin, *Marine biofouling colonization processes and defenses*, Boca Raton, FL: CRC Press, 2004.
31. J.W. Costerton, G.G. Geesey and K.J. Chang, How bacteria stick, *Sci. Am.*, 1978, 238, 86–96. doi: 10.1038/scientificamerican0178-86
32. J.W. Costerton, Z. Lewandowski, D.E. Caldwell, D.R. Corber and H.M. Lappin-Scott, Microbial biofilm, *Annu. Rev. Microbiol.*, 1995, 49, 711–745.
33. S.W. Borenstein, *Microbiologically Influenced Corrosion. Handbook*, in: *Woodhead Publishing Series in Metals and Surface Engineering*, Woodhead Publishing, Cambridge, UK, 2004. doi: 10.1533/9781845698621.frontmatter
34. J. Telegdi, A. Shaban, L. Trif, Chapter 8: Microbiology-Influenced Corrosion (MIC). in: *Trends in Oil and Gas Corrosion Research and Technologies*, 1st Edition, Production and Transmission, Ed.: A.M. El-Sherik, Elsevier, Woodhead Publishing, 2017, 191–214, ISBN: 978-0-08-101105-8.
35. J. Telegdi, *Microbiologically Influenced Corrosion*; Chapter 6, Ed.: K. Demadis, In: *Water Treatment Processes*, Nova Science Publisher, 2012, 145–167.
36. J. Telegdi, T. Szabó, F. Al-Taher, É. Pfeifer, E. Kuzmann and A. Vértes, Coatings against corrosion and microbial adhesion, *Mater. Corros.*, 2010, 61, no. 12, 1001–1007. doi: 10.1002/maco.201005797
37. J. Telegdi, L. Románszki, F. Al-Taher, É. Pfeifer and E. Kálmán, Nanolayers against microbial adhesion, *NACE Int. Corros.*, 2009, p. no. 3987.
38. G. Diósi, J. Telegdi, Gy. Farkas, L.G. Gázsó and E. Bokori, Corrosion influenced by biofilms during wet nuclear waste storage, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 2003, 51, no. 2, 151–156. doi: 10.1016/S0964-8305(02)00138-5
39. P. Gumpel, N. Arlt, J. Telegdi, D. Schiller and O. Moose, Microbiological influence on the electrochemical potential of stainless steel, *Mater. Corros.*, 2006, 57, 715–723. doi: 10.1002/maco.200503962
40. J. Telegdi, A. Shaban, J. Beczner, Zs. Keresztes and E. Kálmán, Biofilm formation controlled by quartz crystal nanobalance, *Mater. Sci. Forum*, 1998, 289–292, 77–82. doi: 10.4028/www.scientific.net/MSF.289-292.77
41. B. El Gammudi, I. El Musrati, A. Bourgheya and A. El Tawil, Microscopic study of bacterial attachment on AISI 304 and AISI 316 stainless steel, *Int. J. Integr. Biol.*, 2008, 42, 72–77.
42. J. Telegdi, L. Trif, L. Románszki, Chapter 9: Smart anti-biofouling composite coatings for naval applications, in: *Smart composite coatings and membranes: Transport, structural, environmental and energy applications*, Ed.: M.F. Montemor, Woodhead Publishing, 2016, 123–155. ISBN:978-1-78242-283-9
43. C. Hellio and D. Yebra, *Advances in marine antifouling coatings and technologies*, Boca Raton, FL: CRC Press, 2009.
44. Y.C. Jung and B. Bhushan, Wetting behavior of water and oil droplets in three-phase interfaces for hydrophobicity/phillicity and oleophobicity/phillicity, *Langmuir*, 2009, 25, 14165–14173. doi: 10.1021/la901906h
45. J. Genzer and K. Efimenko, Recent developments in superhydrophobic surfaces and their relevance to marine fouling: a review, *Biofouling*, 2006, 22, 339–360. doi: 10.1080/08927010600980223

46. ASM International, Corrosion in the Petrochemical Industry, Second ed., Ed.: V. Burt, Essential Research, ASM International, 2015, 426.
47. G. Keramas, D.D. Bang, M. Lund, M. Madsen, H. Bunkenborg, P. Telleman and C.B.V. Christensen, Use of Culture, PCR Analysis, and DNA Microarrays for Detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from Chicken Feces, *J. Clin. Microbiol.*, 2004, 42, no. 9, 3985–3991. doi: 10.1128/JCM.42.9.3985-3991.2004
48. R. Eckert and T.L. Skovhus, Using Molecular Microbiological Methods to Investigate MIC in the Oil and Gas Industry, *Materials Performance*, 2011, 50, no. 8, 50–54.
49. I.B. Beech, Corrosion of technical materials in the presence of biofilms – Current understanding and state-of-the art methods of study, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 2004, 53, no. 3, 177–183. doi: 10.1016/S0964-8305(03)00092-1.
50. H. Mansouri and S.A. Alavi, A study of microbial influenced corrosion in oil and gas industry, Conference Paper, (Teheran) The 1st International Conference of Oil, Gas, Petrochemicals and Power Plants, 2012, 15–27. doi: 10.13140/RG.2.1.3117.8089
51. W. Teugleus, N.V. van Assche, I. Sliepen and M. Quirynen, Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development, *Clin. Oral Implants Res.*, 2006, 17, 68–81. doi: 10.1111/j.1600-0501.2006.01353.x
52. D. Clover, B. Kinsella, B. Pejcic and R. DeMarco, The influence of microstructure on the corrosion rate of various carbon steels, *J. Appl. Electrochem.*, 2005, 35, 139–149. doi: 10.1007/s10800-004-6207-7
53. J.B. Little and J.S. Lee, *Microbiologically Influenced Corrosion*, Wiley, Hoboken, NJ, 2007.
54. R. Bhola, S.M. Bhola, B. Mishra and D.L. Olson, Microbiologically Influenced Corrosion and Its Mitigation: A review, *Mater. Sci. Res. India*, 2010, 7, no. 2, 407–412. doi: 10.13005/msri/070210
55. R. Javaherdashtri, *Microbiologically Influenced corrosion: An Engineering Insight*, Springer, London, 2008.
56. B. Little, P. Wagner and F. Mansfeld, Microbiologically influenced corrosion of metals and alloys, *Int. Mater. Rev.*, 1991, 36, 253–272. doi: 10.1179/imr.1991.36.1.253.
57. C-O.A. Olsson and D. Landol, Passive films on stainless steels-chemistry, structure and growth, *Electrochim. Acta*, 2003, 48, 1093–1104. doi: 10.1016/S0013-4686(02)00841-1
58. K.C. Hwanga, S. Lee and H.Ch. Leeb, Effects of alloying elements on microstructure and fracture properties of cast high speed steel rolls: Part I: Microstructural analysis, *Mater. Sci. Eng.: A*, 1998, 254, no. 1–2, 282–295. doi: 10.1016/S0921-5093(98)00626-1.
59. H.A. Videla, Biocorrosion and biofouling of metals and alloys of industrial usage; Present state of the art at the beginning of the new millennium, *Rev. Metal. (Madrid, Spain)*, 2003, 256–264. doi: 10.3989/revmetalm.2003.v39.iExtra.1128
60. M. Hocevar, M. Jenko, M. Godec and D. Drobne, An overview of the influence of the stainless steel surface properties on bacterial adhesion, *Mater. Tehnol.*, 2014, 48, no. 5, 609–617.
61. C. Díaz, M.C. Cortizo, P.L. Schilardi, et al., Influence of the Nano-micro structure of the surface on bacterial adhesion. *Mater. Res.*, 2007, 10, no. 1. doi: 10.1590/S1516-14392007000100004
62. J. Telegdi, Influence of alloying elements on adhesion of corrosion relevant bacteria, *Corrosion Protection (Ochrona przed Korozja)*, 2018, 61, 15–19. doi: 10.15199/40.2018.6.2
63. J.R. Ibars, J.L. Polo, D.A. Moreno, C. Ranninger and J.M. Bastidas, An impedance study on admiralty brass dezincification originated by Microbiologically Influenced Corrosion, *Biotechnol. Bioeng.*, 2004, 87, 856–862. doi: 10.1002/bit.20197
64. D.A. Moreno, E. Cano, J.R. Ibars, J.L. Polo, F. Montero and J.M. Bastidas, Initial stages of microbiologically influenced tarnishing on titanium after 20 months of

- immersion in freshwater, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2004, 64, 593–598. doi: 10.1007/s00253-003-1472-7
65. L. Trif, A. Shaban and J. Telegdi, Electrochemical and surface analytical techniques applied to microbiologically influenced corrosion investigation, *Corros. Rev.*, 2018, 36, no. 4, 1–15. doi: 10.1515/correv-2017-0032
 66. B.L. Little, P. Wagner and F. Mansfeld, An overview of microbiologically influenced corrosion, *Electrochim. Acta*, 1992, 37, 2185–2194. doi: 10.1016/0013-4686(92)85110-7
 67. B.L. Little, F. Mansfeld, P.J. Arps and J.C. Earthman, Microbiologically influenced Corrosion, In: *Encyclopedia of Electrochemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2007. doi: 10.1002/9783527610426.bard040603
 68. S.C. Dexter, O.W. Siebert, D.J. Duquette and H. Videla, Use and limitation of electrochemical techniques for investigating microbiological corrosion, *Corrosion*, 1989, paper no. 616. doi: 10.5006/1.3585258
 69. W. Wang, J. Wang, H. Xu and X.B. Li, Electrochemical techniques used in MIC studies, *Mater. Corros.*, 2006, 57, no. 10, 800–804. doi: 10.1002/maco.200503966
 70. B.J. Little, P.A. Wagner, Application of Electrochemical Techniques to the Study of Microbiologically Influenced Corrosion, in: J.O. Bockris, B.E. Conway and R.E. White (eds.), *Modern Aspects of Electrochemistry. Modern Aspects of Electrochemistry*, 2002, 34, 205–246, Springer, Boston, MA. doi: 10.1007/0-306-46923-5_5
 71. X. Zhang, R.A. Buchanan, E.E. Stansbury and N.J.E. Dowling, Electrochemical responses of structural materials to microbially influenced corrosion, *CORROSION'89*, NACE International, Houston, 1989, TX. No.512.
 72. B.L. Little and P.A. Wagner, Application of electrochemical techniques to the study of MIC, In: *Modern Aspects of Electrochemistry*, New York: Kluwer Academic, Plenum Publishers, 2001.
 73. W.H. Dickinson, F. Caccavo and Z. Lewandowski, The ennoblement of stainless steel by manganic oxide biofouling, *Corros Sci.*, 1996, 38, 1407–1422. doi: 10.1016/0010-938X(96)00031-5
 74. U. Bertocci, C. Gabrielli, F. Huet and M. Keddam, Noise resistance applied to corrosion measurements. I. Theoretical analysis, *J. Electrochem. Soc.*, 1997, 144, 31–37. doi: 10.1149/1.1837361
 75. W. Lee and D. de Beer, Oxygen and pH microprofiles above corroding mild steel covered with a biofilm, *Biofouling*, 1995, 8, 273–280. doi: 10.1080/08927019509378280
 76. Z. Lewandowski, MIC and biofilm heterogeneity, *CORROSION/2000*, NACE International, Houston, TX, 2000, No. 400.
 77. R.B. Miller, A. Sadek, A. Rodriguez, M. Iannuzzi, C. Gai, J. Senko and C.N. Monty, Use of an Electrochemical Split Cell Technique to Evaluate the Influence of *Shewanella oneidensis* Activities on Corrosion of Carbon Steel, Ed.: A. Al-Ahmad, *PLoS ONE*, 2016, 11, 1 e0147899. doi: 10.1371/journal.pone.0147899.
 78. P.L. Beese, H. Venzlaff, J. Srinivasan, J. Garrelfs, M. Stratmann and K.J. Mayrhofer, Monitoring of anaerobic microbially influenced corrosion via electrochemical frequency modulation, *Electrochim. Acta*, 2013, 105, 239–247. doi: 10.1016/j.electacta.2013.04.144
 79. F. Mansfeld, The polarization resistance technique for measuring corrosion currents, in *Advances in Corrosion Science and Technology*, Eds.: M.G. Fontana and R.W. Staehle, New York, Plenum Press, 1976, 6, 163–262.
 80. F. Mansfeld and B. Little, A technical review of electrochemical techniques applied to microbiologically influenced corrosion, *Corros. Sci.*, 1991, 32, no. 3, 247–272. doi: 10.1016/0010-938X(91)90072-W
 81. G. Schmitt, Sophisticated electrochemical methods for MIC investigation and monitoring, *Mater. Corros.*, 1997, 48, 586–601. doi: 10.1002/maco.19970480905
 82. *Uhlig's Corrosion Handbook*, Third ed., Ed.: R.W. Revie, John Wiley & Sons INC, 2011.

83. Steele, D. Goddard and I. Beech, The use of atomic force microscopy in study of the biodeterioration of stainless steel in the presence of bacterial biofilms, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 1990, 34, 35–46. doi: 10.1016/0964-8305(94)90018-3
84. Y.F. Dufrêne, Application of atomic force microscopy to microbial surfaces: from reconstituted cell surface layers to living cells, *Micron*, 2001, 32, 153–165. doi: 10.1016/S0968-4328(99)00106-7
85. R.S. Khandpur, *Handbook of Analytical Instruments*, Third ed., McGraw Hill Education (India) Private Limited, 2015.
86. A.B. Ronner and A.C.L. Wong, Biofilm development and sanitizer inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* on stainless steel and buna-n rubber, *J. Food Prot.*, 1993, 56, 750–758. doi: 10.4315/0362-028X-56.9.750
87. J.W. Arnold and G.W. Bailey, Surface finishes on stainless steel reduce bacterial attachment and early biofilm formation: scanning electron and atomic force microscopy study, *Poult. Sci.*, 2000, 79, 839–845. doi: 10.1093/ps/79.12.1839
88. S.A. James, L.C. Powell and C.J. Wright, Atomic Force Microscopy of Biofilms- Imaging, Interactions, and Mechanics, (chapter 6), In: *Microbial Biofilms – Importance and Applications*, Ed.: D. Dhanasekaran, InTech, 2016. doi: 10.5772/63312
89. G. Binnig, C. Quate and Ch. Gerber, Atomic force microscope, *Phys. Rev. Lett.*, 1986, 56, 930–933. doi: 10.1103/PhysRevLett.56.930
90. L.Ch. Xua, K-Y. Chanb and H.H.P. Fanga, Application of atomic force microscopy in the study of microbiologically influenced corrosion, *Mater. Charact.*, 2002, 48, 195–203. doi: 10.1016/S1044-5803(02)00239-5
91. L.C. Xu, H.H.P. Fang and K.Y. Chan, Atomic force microscopy study of microbiologically influenced corrosion of mild steel, *J. Electrochem. Soc.*, 1999, 146, 4455–4460. doi: 10.1149/1.1392658
92. S. Stroes-Gascoyne and J.M. West, An overview of microbial research related to high-level nuclear waste disposal with emphasis on the Canadian concept for the disposal of nuclear fuel waste, *Can. J. Microbiol.*, 1996, 42, no. 4, 349–366. doi: 10.1139/m96-051
93. J. Telegdi, J. Beczner, Zs. Keresztes, F.H. Kármán and E. Kálmán, Inhibition of microbiologically induced corrosion, In: *Microbial degradation processes in radioactive waste repository and in nuclear fuel storage areas*, Eds.: J.H. Wolfram, R.D. Rogers and L.G. Gazso, Kluwer Academic Publisher NATO ASI Series, 1. *Disarmament Technologies*, 1997, 178–186.
94. J. Telegdi, Zs. Keresztes, G. Pálinkás, E. Kálmán and W. Sand, Microbially influenced corrosion as revealed by atomic force microscopy, *Appl. Phys. A*, 1998, 66, S639–S642. doi: 10.1007/s003390051215
95. M. Kuehn, M. Hausner, H-J. Bungartz, M. Wagner, P.A. Wilderer and S. Wuertz, Automated confocal laser scanning microscopy and semi-automated image processing for analysis of biofilms, *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, 64, 4115–4127. doi: 10.1128/AEM.64.11.4115-4127.1998
96. H. Li, E. Zhou, D. Zhang, D. Xu, J. Xia, C. Yang, H. Feng, Z. Jiang, X. Li, T. Gu and K. Yang, Microbiologically Influenced Corrosion of 2707 Hyper-Duplex Stainless Steel by Marine *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm, *Sci. Rep.*, 2006, 6, 20190. doi: 10.1038/srep20190.
97. *Confocal Raman Microscopy*, Eds.: T. Dieing, O. Hollricher and J. Toporski, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010. ISBN 978-3-642-12521-8.
98. C. Sandt, T. Smith-Palmer, J. Pink, L. Brennan and D. Pink, Confocal Raman microspectroscopy as a tool for studying the chemical heterogeneities of biofilms in situ, *J. Appl. Microbiol.*, 2007, 103, 1808–1820. doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03413.x
99. B.D. Beier, R.G. Quivey, Jr. and A.J. Berger, Identification of different bacterial species in biofilms using confocal Raman microscopy, *J. Biomed. Opt.*, 2010, 15, 066001-1–066001-5. doi: 10.1117/1.3505010

100. B.D. Beier, R.G. Quivey and A.J. Berger, Raman microspectroscopy for species identification and mapping within bacterial biofilms, *AMB Express*, 2012, 2, 35. doi: 10.1186/2191-0855-2-35
101. D.E. Nivens, J.Q. Chambers, T.R. Anderson and D.C. White, Long-term, on-line monitoring of microbial biofilms using a quartz crystal microbalance, *Anal. Chem.*, 1993, 65, 65–69. doi: 10.1021/ac00049a013
102. J.J.T. Babauta, C.A. Beasley and H. Beyenal, Investigation of electron transfer by *Geobacter sulfurreducens* biofilms by using an electrochemical quartz crystal microbalance, *ChemElectroChem*, 2014, 1, 2007–2016. doi: 10.1002/celec.201402127
103. J. Wegener, A. Janshoff and C. Steinem, The quartz crystal microbalance as a novel means to study cell-substrate interactions in situ, *Cell Biochem. Biophys.*, 2001, 34, 121–151. doi: 10.1385/CBB:34:1:121
104. A-C. Olofsson, M. Hermansson and H. Elwing, Use of a quartz crystal microbalance to investigate the antiadhesive potential of N-acetyl-L-cysteine, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005, 71, 2705–2712. doi: 10.1128/AEM.71.5.2705-2712.2005
105. V. Reipa, J. Almeida and K.D. Cole, Long-term monitoring of biofilm growth and disinfection using a quartz crystal microbalance and reflectance measurements, *J. Microbiol. Methods*, 2006, 66, 449–459. doi: 10.1016/j.mimet.2006.01.016
106. M.C. Dixon, Quartz crystal microbalance with dissipation monitoring: enabling real-time characterization of biological materials and their interactions, *J. Biomol. Tech.*, 2008, 19, 151–158.
107. Tunlid, D.E. Nivens, H. Jansson and D.C. White, Infrared monitoring of adhesion of *Catenaria anguillulae* zoospores to solid surfaces, *Exp. Mycology*, 1991, 15, 206–214. doi: 10.1016/0147-5975(91)90022-6
108. D. Helm, H. Labischinski, G. Schallehn and D. Naumann, Classification and identification of bacteria by Fourier-transform infrared spectroscopy, *J. Gen. Microbiol.*, 1991, 137, 69–79. doi: 10.1099/00221287-137-1-69
109. P.D. Nichols, J.M. Henson, J.B. Guggert, D.E. Nivens and D.C. White, Fourier transform infrared spectroscopic methods for microbial ecology: analysis of bacteria, bacteria-polymer mixtures and biofilms, *J. Microbiol. Methods*, 1985, 4, 79–94. doi: 10.1016/0167-7012(85)90023-5
110. S. Hofmann, Depth profiling, In: *Practical Surface Analysis by Auger and X-ray Photoelectron Spectroscopy*, Eds.: D. Briggs and M.P. Seah, John Wiley & Sons Inc., New York, 1983, 141–179.
111. D. Briggs and J.C. Riviere, Spectral interpretation, In: *Practical Surface Analysis by Auger and X-ray Photoelectron Spectroscopy*, Eds.: D. Briggs and M.P. Seah, John Wiley & Sons Inc., New York, 1983, 87–139.
112. G. Chen, R.J. Palmer and D.C. White, Instrumental analysis of microbiologically influenced corrosion, *Biodegradation*, 1997, 8, 189–200. doi: 10.1023/A:1008229419434
113. R.A. King and J.D.A. Miller, Corrosion by the Sulphate-reducing Bacteria, *Nature*, 1971, 233, no. 5320, 491–492. doi: 10.1038/233491a0
114. M. de Romero, Z. Duque, L. Rodríguez, O. de Rincón, O. Pérez and I. Araujo, A Study of Microbiologically Induced Corrosion by Sulfate-Reducing Bacteria on Carbon Steel Using Hydrogen Permeation, *CORROSION*, 2005, 61, 68–75. doi: 10.5006/1.3278162
115. J. Telegdi, A. Shaban and Gy. Vastag, Surface Science and Electrochemistry of Interfacial Chemistry, in: *Encyclopedia of Interfacial Chemistry: Biocorrosion-steel*, Ed.: P. Vadgama, 2017.
116. B. Little, J. Lee and R. Ray, Microbiologically Influenced Corrosion: Global Phenomena, Local Mechanisms, Conference Proceeding, 20110224061 REPORT DATE: 17-02-2011. Naval Research Laboratory Stennis Space Center, MS, USA 39525.
117. Y. Li, D. Xu, Ch. Chen, X. Li, X., R. Jia, D. Zhang, W. Sand, F. Wang and T. Gu, Anaerobic microbiologically influenced corrosion mechanisms interpreted using

bioenergetics and bioelectrochemistry: A review. *J. Mater. Sci. Technol.*, 2018, 34, 1713–1717. doi: 10.1016/j.jmst.2018.02.023

Review on the microbiologically influenced corrosion and the function of biofilms

J. Telegdi,^{1,2*} A. Shaban¹ and L. Trif¹

¹*Institute of Materials and Environmental Chemistry, Research Centre for Natural Sciences, Budapest, Hungary*

²*Óbuda University, Faculty of Light Industry and Environmental Engineering, Budapest, Hungary*

*E-mail: telegdi.judit@ttk.hu

Abstract

The microbiologically/microbially influenced corrosion (MIC) is a special type of corrosion; in this case the microorganisms by their presence and aggressive metabolites alter the processes on solid surfaces *via* electrochemical and chemical reactions. When microorganisms are present in most cases the degradation of metals or alloys happens by microbes embedded in biofilms and by their excreted metabolites (*e.g.* acids), macromolecules (with complexing ability) and by other molecules that can form insoluble precipitates; all these reactions increase the deterioration. The paper summarizes the most important characteristics of the MIC, mainly the so-called biocorrosion of metals and alloys. Not only the chemical and electrochemical processes, but the roles of the corrosion relevant microorganisms in the deteriorating processes, as well as the information about the mechanisms of the MIC worked out in the past and in the very last period are discussed. The most important (aerobic, anaerobic, slime former, acid producer *etc.*) microorganisms, their nutrient requirements and the formation and role of biofilms are presented, characterized and discussed, as well as the influence of biofilms on the MIC is also demonstrated. The impact of metals on the MIC is also discussed. The history of the research on MIC from its discovery till the 21st century will demonstrate the enormous work that allowed the understanding of this special type of corrosion as well as its mechanism and the role of the biofilm in MIC. The paper will expose the reactions that go on between the slimy layer (that surrounds the microorganisms even in planktonic form) and the metal surface. The mostly used techniques to visualize what on the surface happens and to measure the change in the current density/corrosion potential and in the corrosion rate due to microbial action are also summarized and in all cases the advantages and disadvantages of all methods are discussed.

Keywords: *MIC, history of MIC, biofilms, biofouling, biocorrosion, corrosion relevant microorganisms, instrumentations, techniques for evaluation of MIC.*

Received: August 26, 2019. Published: December 30, 2019

doi: [10.17675/2305-6894-2020-9-1-1](https://doi.org/10.17675/2305-6894-2020-9-1-1)

1. History of MIC

The microbiologically influenced corrosion is not a new type of corrosion, but its specialty is that the microorganisms with their presence (directly or indirectly) and with their aggressive metabolites enhances the rate of metal corrosion.

MIC can deteriorate metals exposed to sea water, fresh water, demineralized water, process chemicals, food stuffs, soils, aircraft fuels, human plasma, and sewage.

Microorganisms can accelerate the rates of partial reactions and cause enhanced corrosion. The microbiologically initiated/influenced corrosion was first mentioned by Garrett [1] who gave account on bacterial deterioration of lead-covered cables. The subsequent report was published by Gaines who coupled the undesired microbial deterioration with the presence of sulfur in the corrosion products [2].

After the pioneer work of von Wolzogen Kuhr and van der Flugt in 1934 [3], until the 1960s, only few publications reported practical cases. As early as in 1926 microbiologists isolated sulfate reducing bacteria in oil environment [4, 5].

The existence of the biofilm was first mentioned by Zobel in 1943 [6], and then intensive research on the MIC started, which led to the acceptance of this special type of corrosion initiated and enhanced (and in some cases inhibited) by microorganisms. The development was supported by the elaboration/discovery of surface analytical, electrochemical and microscopic techniques that promoted the clarification of the role of biotic and abiotic sulfide in the microbiologically influenced corrosion.

During the 1960s and the early 1970s the research on MIC was devoted to objection or verification of the anaerobic iron corrosion provoked by sulfate reducing bacteria. The researchers focused on the explanation of MIC mechanisms by the cathodic polarization theory. The hindrance of the appropriate knowledge transfer among the different specialists explains the difficulty in reaching an adequate understanding of MIC. In the 1980s, which brought a significant progress in understanding of MIC, several research groups carried out intensive work to elucidate the MIC mechanisms. An increasing intellectual and technical cross-fertilization of ideas elaborated by microbiologists, materials scientists, electrochemists improved the understanding of MIC. The 1990s brought a breakthrough in knowledge of MIC. The tardiness was not only due to the lack of cooperation among specialists (chemists, microbiologists, and metallurgists) but to the lack of special instrumentation that could measure the destructive activity of microbes involved in a biofilm.

The twenty-first century resulted in further development of new analytical methods applicable either in laboratory or at industry. One of the most exciting advances in instrumentation appeared in these years are the chemical/biochemical microsensors that can *in situ* analyze the changes in the oxygen level, in the pH value and in the concentration of different metabolites within the biofilm. Although the MIC is of electrochemical nature, the participation of microbes in these undesired reactions alters the metal-solution interface by the formation of biofilms.

Considering the recent advances in MIC research the molecular techniques of the bacterial DNA and RNA are the most promising methods as they offer the identification of dominant bacteria in a biofilm without application of other traditional techniques; they can calculate the ratio of different microorganisms that contribute to the MIC.

To show the importance of this type of corrosion, and to try to elucidate a lot of unsolved/unanswered questions, important publications appeared on MIC in the last years. There are very good summaries (books, book chapters and publications) on the MIC that try to summarize and explain the essential phenomena of MIC [7, 8].

2. Biofilm, influence of biofilms

Biofilm is the general appellation of biodeposition, which can be formed when a solid surface is in contact with water. According to Charaklis the biofilm is an undesired deposition that decreases the power capacity and lifetime of instruments [9–12], mars the water quality and has substantial financial consequences. In most cases the composition of the biodeposits is inhomogeneous that contributes to an increased microbial deterioration.

From the point of view of MIC the biofilm formation is the key factor that significantly influences a solid surface deterioration. The biological changes go parallel with the microbial accumulation, biofilm formation. The corrosion relevant microbes that initiate biofilm formation and, at the same time, excrete aggressive metabolites (*e.g.* sulfide ions and acids) as well as exopolymeric substances (EPS) that are the most important component of a gelatinous biofilm, are dangerous. The EPS acts as glue, it ensures a “safe life” for microbes within the biofilm, where they can securely grow, propagate, excrete metabolites and are able to communicate with the same and with other microorganisms through quorum sensing molecules.

In aquatic environments the microorganisms after attaching to metals, colonize and form biofilms; the environment at the biofilm/metal interface differs radically from the bulk considering the pH value, the concentration of the dissolved oxygen, and organic/inorganic species. This leads to electrochemical reactions that control the corrosion rates.

The biofilm influences the metal surface as follows:

- It alters the transport of chemicals from or toward the metal surface. The biofilm forms a diffusion barrier for certain chemical species (nutrients, metabolites *etc.*).
- *Via* the biofilm the protective (passivating) film can be removed from the metal surface.
- The patchy distribution of microbiological settlement generates aeration effects, which results in formation of differential aeration cells, where areas under respiring colonies are depleted in oxygen.
- At the metal-solution interface the oxidation-reduction conditions change.
- The biofilm alters the structure of an inorganic passive layer, releases/removes the metal ions from the surface by the metabolic by-products and by the exopolymeric

substances that can coordinate the metal ions. Formation of concentration cells is initiated.

Biofilms of different origin are divergent [13]. In most cases not only one type of microorganisms forms a biofilm but the whole community of the microbes creates a biofilm of mixed population [14–17].

2.1. The composition of biofilms

The main ingredient of a biofilm is water (75–90%); the other constituents are the follows:

1. Microorganisms: bacteria (autotroph, heterotroph), fungi, algae, cyanobacter, protozoa;
2. Exopolymeric substances (EPS): polysaccharides, lipopolysaccharides, humic acids, proteins, nucleic acids, lipids [18, 19]
3. Organic and inorganic materials

The biomatrixes of different origin differ significantly in most cases [20–23], their compositions depend on the nutrients [24]. The EPS guarantees the 3D arrangement of the microbes and keep them far from each other. In some cases not the EPS but proteins are the most important builder of the biofilm [25].

The structure of the EPS is assured by different weak forces:

1. van der Waals forces (hydrophobic interactions, binding energy: $2.5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, binding length: 0.3–0.4 nm),
2. electrostatic interactions (binding force: $12\text{--}29 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$),
3. hydrogen bonds (binding force: $10\text{--}30 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$).

These forces prevail not only among in the EPS molecules but amidst the microorganisms and the organic/inorganic substances [26].

2.2. Why do microbes like to live in biofilms?

The corrosion relevant microorganisms are mostly dangerous in sessile form, embedded into biofilms, but much less in planktonic form. Microbes involved in biofilms and embedded in deposits are dangerous as the formation of a biofilm provides a niche for corrosive microbes to grow and proliferate.

In aqueous environments microbes readily attach to solid surfaces as the living conditions in biofilm are better and safer for them than in the planktonic existing (Figures 1 and 2).

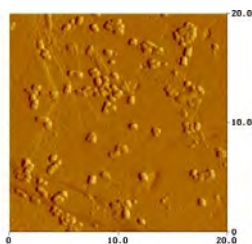


Figure 1. Microbes scattered on a solid surface (NanoScope III, Digital Instrument).

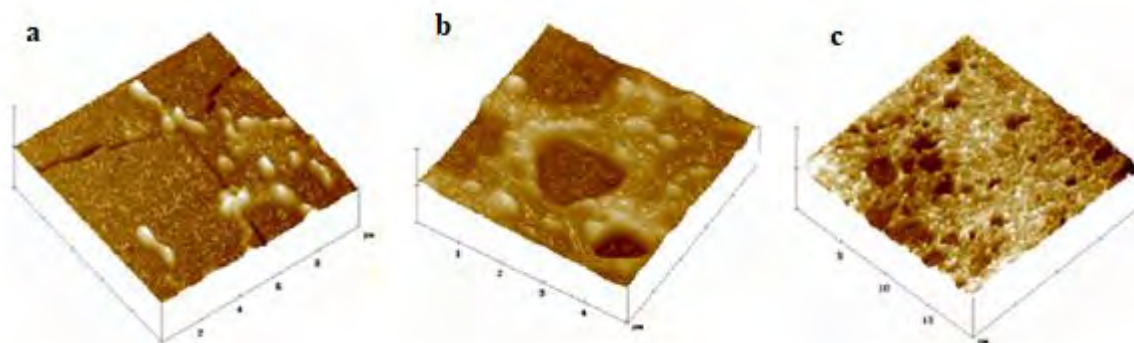


Figure 2. Biofilm formation: a: microbes adhered to the surface; b: microbes embedded into EPS; c: the solid surface almost completely invaded by the biofilm (NanoScope III, Digital Instrument; $z = 1000$ nm).

Both in planktonic and in biofilm-embedded form the microbial cell walls are surrounded by exopolymeric substances (Figure 3), which are sticky and allow the adhesion of microorganisms to solids. The accumulation of microorganisms on metals, which results in biofilm (Figure 2), alters the microenvironment (the wettability, the electrostatic charge) and helps in colonization of microbes.

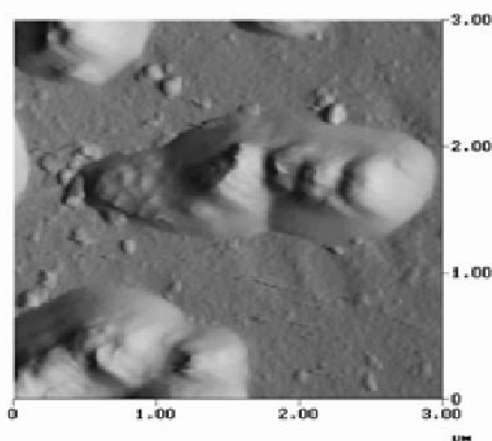


Figure 3. *Leptospirillum ferrooxidans* surrounded by EPS (NanoScope III, Digital Instrument).

The biofilm is not necessarily uniform in time and place (Figure 2) as well as in pH, in dissolved chemicals and in the oxygen concentration [27]. It is necessary to mention that beneath the biofilm starts the metal degradation (Figure 4).

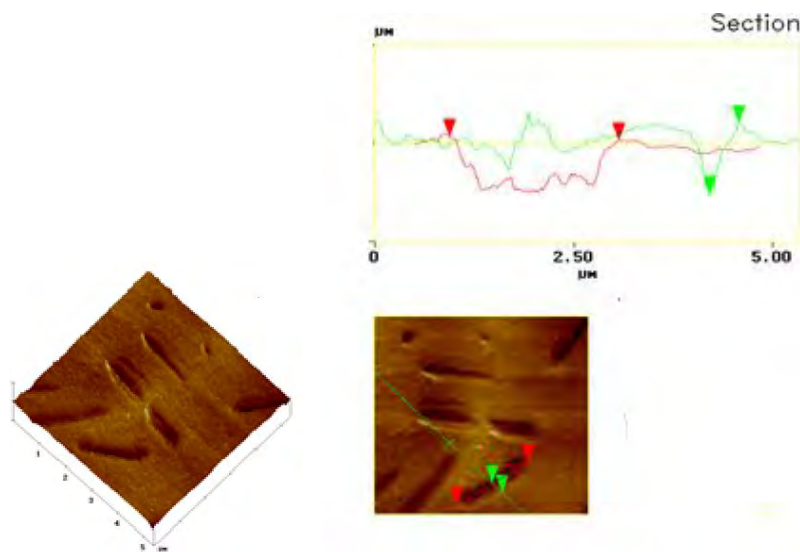


Figure 4. Iron surface etched by the acid producer *Acidithiobacillus intermedia* (NanoScope III, Digital Instrument; $z = 500$ nm).

2.3. Progression in the biofilm formation

When a biodeposition starts, the microorganisms make a transition from a free-floating planktonic to a stationary sessile lifestyle, and the result is a biofilm.

When a chemically inert substrate is immersed in aqueous environment almost immediate starts the accumulation of organic molecules on the wetted surface; first a conditional layer is formed, its composition depends on the ions, glycoproteins, humic and fulvic acids *i.e.* on organic compounds and inorganic ions accumulated from the aqueous environment. The adhesion of microorganisms starts reversibly and later irreversibly; it is enhanced by the presence of the EPS layer (Figure 3).

The forces responsible for the adhesion of microorganisms are electrostatic interaction and van der Waals forces – the same ones, which keep together the biofilm structure. Initial attachment of cells is controlled by physical adhesion between the microorganism and the substrate. It is also known as adsorption, when the initial colonists attach to a surface through weak, reversible bonds (which are slightly stronger than electrostatic repulsive forces) as well as by hydrogen bonds. Irreversible attachment is accomplished with secretion of further EPS that forms a sponge-like matrix. This adhesive material permanently binds the microorganisms to each other and collectively to the surface [28–30].

The biofilm continues to grow and becomes diverse by attracting more microorganisms through chemical messengers. More and more microbes accumulate and form a layer in a shorter (several minutes) or longer (some hours) time. The enhanced EPS production as well as the microbial proliferation results in a thick, gelatinous biofilm; it mainly consists of water, microorganisms of different species and other components from the aqueous environment.

The biofilm is a dynamic system with transport processes and chemical reactions; within the biofilm there is a gradient of the pH, ions and microbes. The number of anaerobic cells increases near to the solid surface, and the aerobes will accumulate near to the upper part of the biofilm, closer to the liquid/air interface. Their activity provides a natural environment for the anaerobes.

During the biofilm formation numerous changes happen: First, an electric double layer (that mediates the adsorption of organic molecules, mainly proteins) is established at the surface of the solid in less than a second. In the next step subunits of fibrinectin adsorb to the surface that mediate the binding of microbial cells to the solid surface first reversibly then irreversibly via the cell membranes. When bacterial cells are bound to the surface, they undergo on a phenotypic change and the excretion of the exopolymeric substance continues. In all these periods the cells grow, proliferate, metabolize (producing more and more EPS) and form a cohesive structure known as gel-like biofilm [31]. There is a gradient in the film: near to the solid surface are the anaerobic microbes while the aerobic microorganisms are mainly located nearby the solution/air interface. Biofilm microorganisms live in customized microniche in a complex microbial community that exhibits homostasis, a primitive circulatory system and metabolic cooperativity, and each of these sessile cells reacts with its special environment in a way that differs fundamentally from the planktonic cells of the same species [32].

An example for the cooperative existence is the interaction of the sulfate reducers and the sulfur oxidizers. Considering the main aggressive corrosion relevant microorganisms, the anaerobic sulfate reducers produce as a main metabolite the $\text{H}_2\text{S}/\text{S}^{2-}$ from sulfate ions. These molecules form an insoluble black precipitate with the Fe^{2+} ion. Then blackish deposit covers the surface that clearly indicates the formation of FeS and the activity of the anaerobe microorganisms. The protruding blackish deposits show the primer sulfate reducer colonies; beneath them the metal surface is more severely damaged, with other words here the metal dissolution is more visible due to the enhanced metabolic activity (Figure 5).

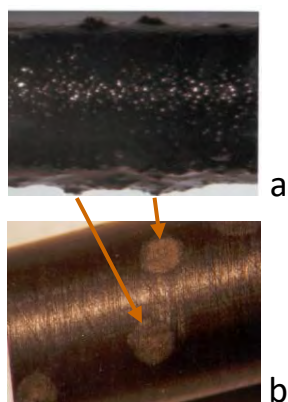


Figure 5. Mild steel surface after immersion into a broth inoculated with *Desulfovibrio desulfuricans*; a: the blackish biofilm with FeS that covers the metal surface; b: the metal surface after removal of the biofilm; the light spots represents the initial adsorption of the anaerobic microorganisms.

In an important aerobic reaction the sulfide ions are transformed to sulfate ions via oxidation catalyzed by aerobic microorganisms. This shows that the corrosion relevant microorganisms are forming a so-called “autarchy” economy when the side products (metabolites) from one side of microbes are converted into the same component, which was originally altered to H₂S. Biofilm formation involves the participation of different types of microorganisms thus their coherent coexistence is essential for their survival [33].

The biofilm not only protect the microorganisms from the external environment and let them live under safe condition but beneath the nanolayer starts the deterioration of metals when the first initiated pitting corrosion changes into general corrosion [34].

The bacterial corrosion is accompanied by formation of slimes and deposits of microbial, organic and inorganic origin and beneath them anaerobic conditions prevail.

The tendency of microorganisms to adhere to solid surfaces can be evaluated by different approaches like interaction energy, thermodynamics and by Derjaguin–Landau–Verwey–Overbeek (DLVO) as well as extended DLVO theory. These are based on long- and short-range forces between bacteria and the surface, by surface energy approach; the physical and chemical interactions between the solid surface and the biofilm should also take into consideration. Other parameters that may influence the rating process of bacterial accumulation on metals are the surface hydrophobicity or hydrophilicity as well as the surface roughness [35–42]. Surface wettability that influences fouler colonization ranges from superhydrophobic to superhydrophilic surfaces [43–45]. A hydrophobic surface exhibits low wettability and low surface energy, whereas a hydrophilic surface has high wettability and high surface energy.

The factors that play important role in the biofilm formation are the following:

1. Properties at the metal/solution interface: chemical composition, concentration of components in the aqueous environment, organic and inorganic ionic strength, pH, surface oxide coverage (passive layer thickness), polarization, roughness; all these factors significantly influence the bacterial attachment, colonization and biofilm formation.
2. Bacteria/medium characteristics: the microbial cells – with some exceptions – are negatively charged at neutral pH values. The attachment of some corrosion relevant bacteria (*Desulfovibrio desulfuricans*, *Desulfovibrio singaporenus*, *Pseudomonas*) to iron alloy surfaces show the highest adhesion forces at pH values that are close to the isoelectronic points of bacteria.

Once microorganisms form a thick gelatinous layer, macroorganisms (*e.g.* mussels, alga, barnacles) present in natural waters can accumulate on the top of the biofilm and together with other inorganic insoluble chemicals (*e.g.* solid corrosion products) form a massive, well-adhered biodeposit that decreases the economic function/efficacy [42].

In order to carry out biocorrosion risk assessment, it is essential to have proper surface sampling, which should be followed by identification of microorganisms in the samples and by analysis of the water.

3. Classification of microorganisms

The taxonomy is the science of classification of organisms, when new or existing microorganisms are identified. The organisms form two classes: prokaryotes and eukaryotes.

The prokaryotes have no nucleus and their multiplication goes by fission. The eukaryotes contain real nuclei and their division goes by mitosis. Fungi, algae and protozoa that take part in MIC are eukaryotic microorganisms; bacteria that are permanent participants in MIC are prokaryotes.

According to the morphology, physiology, and genetics the microorganisms can be categorized into three groups [46].

3.1. Classification according to oxygen demand

As to the oxygen demand bacteria can be classified into two groups: aerobic or anaerobic organisms.

Anaerobic microorganisms (or anaerobes) are those that do not require oxygen to their microbial activity. According to the oxygen demand the anaerobes are classified as:

- *obligate anaerobes* (the presence of oxygen is harmful);
- *aerotolerant organisms*: (they tolerate the presence of oxygen);
- *facultative anaerobes* (they can grow without oxygen but they use oxygen if it is present);

Aerobic microorganisms can live, grow and proliferate in oxygen environment. Their classification is the follow:

- *obligate aerobes* (they need oxygen in cellular respiration for oxidation of substrates like sugars, fats; in these reactions energy is generated);
- *facultative aerobes* (they use oxygen for energy production but they also use anaerobic method for energy production);
- *microaerophiles* (oxygen is required for energy production, but the atmospheric oxygen destroys them);
- *aerotolerantes* (they cannot use oxygen directly but the presence of oxygen does not destroy them).

3.2. Classification of microorganisms according to the energy and carbon requirement

Energy sources:

- *Chemotrophs (respiration)*: they respire molecular oxygen as terminal electron acceptor (aerobic respiration); they also use nitrate (anaerobic respiration). Methane producers and many sulfate reducers belong to this group.
- *Chemotrophs (fermentation)*: the energy derives from phosphorylation;

- *Chemolithoautotrophes*: they obtain energy through oxidation of inorganic compounds and from CO₂; sulfur and iron oxidizing bacteria, nitrifying bacteria belong to this group;
- *Phototrophs*: they gain energy by photophosphorylation; oxygen-evolving and not oxygen-evolving species belong to this group.

Carbon resource: this is the most important for all organisms.

- *Heterotrophs*: they supply the carbon need from organic compounds;
- *Autotrophs*: they utilize carbon dioxide;
- *Chemoheterotrophs, chemoorganotrophs*: generally the organotrophs use various organic compounds as carbon and energy source;
- *Chemoautotrophs, chemolithotrophs*: they are lithotrophs; the ATP is generated by oxidative phosphorylation;
- *Myxotrophs*: they are “chemolithotropic heterotrophs” using carbon dioxide;
- *Photoheterotrophs and photoautotrophs*: they utilize light as energy source and CO₂ as carbon source.

3.3. Classification of microorganisms according to taxonomic hierarchy

Taxonomy classifies new and existing organisms. The hierarchy is the following: *domain–kingdom–phylum–class–order–family–genus–species–strains*.

A simple summary about the microbial demand is demonstrated in the Table 1.

Table 1. The need of microorganisms for growth.

requirements for microbes	supplied by	kind of growth
energy source	light, chemical substances	phototrophic, chemotrophic
carbon source	CO ₂ , organic substances	autotrophic, heterotrophic
electron donor (which is oxidized)	inorganic substances, organic substances	lithotrophic, organotrophic
electron acceptor (which is reduced)	oxygen, NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , CO ₂	aerobic, “anoxic” anaerobic

The most widely employed methods for classifying microbes are the follows:

1. morphological characteristics,
2. differential staining,
3. biochemical testing, DNA finger-print of DNA-base composition,
4. polymerase chain reaction, and DNA chips [47, 48].

After getting insight into the life of the microorganisms, in the next part those bacteria will be introduced that are mainly responsible for the biocorrosion.

4. Corrosion relevant microorganisms

The role of microorganisms in the deterioration of materials can be classified into: biofouling, biodeterioration and biocorrosion (or MIC). There are about several dozens of microorganisms that cause MIC on iron, copper and aluminum alloys in humid or aqueous environment. Some microorganisms possess extreme tolerance to severe conditions such as acidic and alkaline environment, low and high pressure as well as wide temperatures and salt concentration range. Under very extreme conditions they are able to keep their activities (growing, metabolizing, and multiplying). They are able not only to tolerate such harsh conditions, but they can generate special conditions and create aggressive environments that promote directly or indirectly the metal deterioration.

4.1. Microorganisms associated with MIC

The most important chemolithotrophic corrosion relevant bacteria are the follows:

4.1.1. Sulphate-reducing bacteria (SRB)

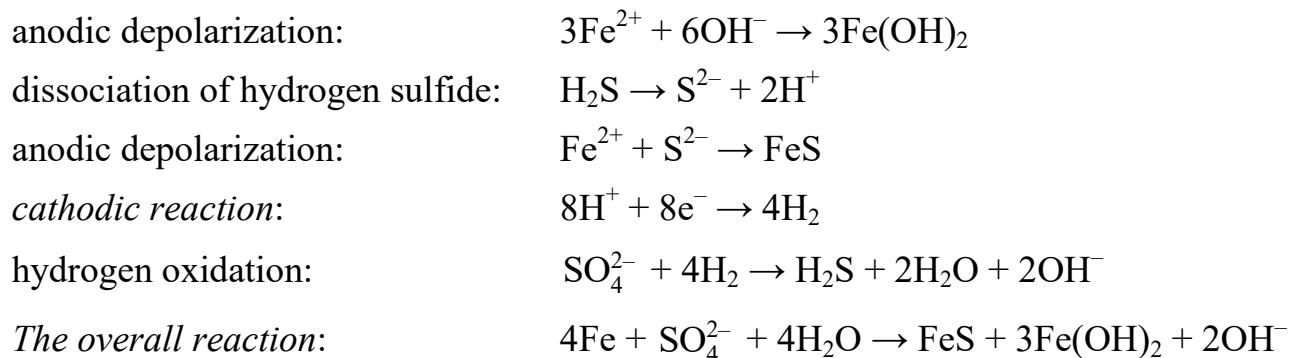
This type of microorganisms has four subgroups: 1. proteobacteria; 2. firmicutes; 3. thermodesulfobacteria; 4. archaea.

The anaerobe SRBs gain their energy by oxidizing organic compounds or molecular hydrogen (H_2) and reducing sulfate (SO_4^{2-}) ions to hydrogen sulfide (H_2S). With other words, they use sulfate ions instead of oxygen in the anaerobic respiration, and oxidize organic substances to organic acids or CO_2 by the reduction of sulfate to sulfide. The sulfide metabolite can react with metal ions and produce metal sulfides (e.g. ferrous sulfide (FeS)), that are poorly soluble in aqueous environment and make a dark sludge appearance (Figure 5).

The isolated SRBs might differ in their appearance or in the energy source they use. Some SRBs can use both elemental sulfur and sulfate as electron acceptors. Common SRB species include genera *Desulfovibrionales*, *Desulfosporosinus*, *Desulfotomaculum*, *Syntrophobacterales*, *Desulfosporomusa*, and *Desulfobacterales*. *Thermodesulfovibrios* are also found among them as a member of the *Nitrospirae* phylum. Two types of *thermophilic* sulfate-reducing bacteria exist that are active at higher temperature: thermodesulfobacteria and thermodesulfobium. In the biocorrosion where SRBs play important role, oxygen concentration cells are formed, H_2S/S^{2-} are released that form insoluble precipitate, which leads to cathodical depolarization.

In order to understand how the SRBs can accelerate the corrosion, the equations below show the main reactions that take place in the presence of iron and SRB. The most important is the metal dissolution on the anode, and the reduction on the cathode. These anodic and cathodic reactions are summarized here:





The formation of FeS and Fe(OH)₂ solids shows clearly how the presence of microorganisms enhance the rate of corrosion.

4.1.2. Iron and/or manganese oxidizing bacteria (IMB)

These aerobic bacteria can metabolize by utilizing the oxidation of ferrous and/or manganese ions. The microbiologically produced ferric and/or manganese salt deposits are typically brown colored. The removal of a protective passive oxide films by these microorganisms leads to enhanced metal corrosion.

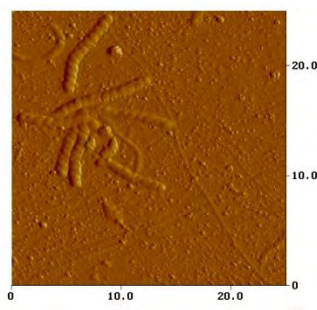


Figure 6. Iron oxidizing bacteria (*Gallionella*).

Iron-oxidizing bacteria, such as *Gallionella* (Figure 6), *Sphaerotilus*, *Leptothrix* and *Crenothrix*, which are often identified by their distinctive morphologies such as the extracellular twisted ribbon-like stalks formed by *Gallionella ferruginea*, oxidize the soluble ferrous iron (Fe^{2+}) to insoluble ferric iron (Fe^{3+}) (e.g. to $\text{Fe}(\text{OH})_3$). During the oxidation extremely aggressive ferric chloride ions are formed that alter the environment into very low local pH \cong 1, which leads to formation of localized pits on iron alloy surfaces.

4.1.3. Iron reducing bacteria (IRB)

The IRBs are less important than the iron oxidizing bacteria though they also play role in the MIC. When IRBs are together with SRB, carbon steel metal samples will more severely damaged than in abiotic environment [49, 50].

Several types of microorganisms (bacteria), including those from the genera *Pseudomonas* and *Shewanella* have the ability to reduce Mg and/or Fe oxides that also can influence the corrosion reactions.

4.1.4. *Pseudomonas aeruginosa*

This Gram-negative bacterium can be found almost everywhere in the environment; this also plays important role in initialization of MIC. They adhere to solids first (by their adhesion starts the biofilm formation), and then the other microorganisms use the pioneer colonies where to stack. The aerobic slime-former *Pseudomonas* can combine the thin gelatinous film with corrosion deposits formed on metal surfaces.

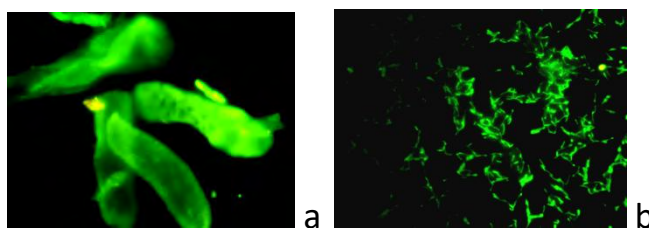


Figure 7. *Pseudomonas aeruginosa* a: single cells; b: scattered on a solid surface.

4.1.5. Sulphur-oxidizing bacteria (SOB)

Sulphur-oxidizing bacteria are aerobes that gain energy by oxidation of the reduced sulfur compound (e.g. H_2S) into elemental sulfur (S^0) by partial oxidation, or to sulfate (SO_4^{2-}), which forms sulfuric acid (H_2SO_4) in aqueous environment. *Beggiatoa* and *Paracoccus* are two classical examples of sulfur-oxidizing bacteria.

These aerobic sulfur-oxidizing prokaryotes belong to genera like *Acidianus*, *Acidithiobacillus*, *Aquaspirillum*, *Aquifex*, *Bacillus*, *Beggiatoa*, *Methylobacterium*, *Paracoccus*, *Starkeya*, *Sulfolobus*, *Thermithiobacillus*, *Thiobacillus*, and *Xanthobacter*.

The most investigated genera of SOBs (*Thiobacillus*, *Sulfolobus*, *Thermothrix*, *Beggiatoa*, and *Thiothrix*) that biologically oxidize the sulfides are chemolithotrophs. *Thiobacillus ferrooxidans*, an acidophile, (active in the pH range of 1.0–2.5) and also thermophile, (prefer temperatures of 45–50°C) oxidizes iron- and sulfur-containing minerals.

4.1.6. Slime-former bacteria

The slime formers (in the presence or absence of oxygen) produce a variety of extracellular mats of high-density slime that can cover partly or totally a solid surface. Their primary detrimental effects are due to the protection of anaerobes and aerobes, to the removal of metal ions by chelation, and to formation of pore plugging corrosion products. In formation of biofilm/biomass matures, aerobic bacteria consume oxygen, produce metabolic byproducts that are nutrient for anaerobes and these processes create real anaerobic environments underneath the biofilm.

4.1.7. Acid producer bacteria

Acid producer bacteria form organic and inorganic acids as well as nutrients for other species, *i.e.* the generated fatty acids are used by other microorganisms (*e.g.* by SRBs). Recently, acid producing bacteria are recognized as a more dangerous microbial species connected with MIC due to their fermentative activities that alters the local pH within the biofilm, and it shifts it into more acidic range.

An example for the acid producing bacteria is the *Thiobacillus thiooxidans* that forms H_2SO_4 , when corrosion proceeds and hydrogen is liberated in the cathodic reaction.

5. Metals influenced by MIC

Important topic is what the chemical composition of construction materials is as it determines the susceptibility of metals to abiotic (chemical) and biotic (microbiologically influenced) corrosion. The surface of the metallic substratum plays an essential role in the early stage of EPS and cell accumulation/distribution [51, 52].

It is difficult to predict in advance the place where the metal loss at high rate starts. It depends not only on the composition of the alloys but on the types and numbers of microbes as well as on the general conditions (temperature, nutrients for bacteria, pH, salt content, *etc.*).

One should keep in mind that the metabolic products (*e.g.* sulfide, organic acids) alter the interface chemistry and result in increased corrosion rate because of the presence of EPS, pH- and dissolved oxygen gradients that lead first to localized (pitting and crevice), later to general corrosion, parallel with de-alloying [53–55].

On the other hand, a biofilm forms a diffusion barrier for certain chemical species (*e.g.* oxygen, nutrients, and aggressive ions like chloride) [56].

From economic point of view the MIC costs are very important; it is about 0.3–0.85 GDP. The main industries affected by MIC are paper and pulp, waste treatment, chemical, petrochemical and power industries, to mention only some of them.

5.1. Aluminum and aluminum alloys

Aluminum often used in constructions especially in the aeronautic industry is a very useful metal owing to the resistance of Al_2O_3 passive film formed on the surface. But, unfortunately, it is very susceptible to localizes corrosion initialized by different ions (*e.g.* Cl^-) and by microorganisms. At the metal surface the microbes accelerate the dissolution and alter the metal composition as well as the corrosion processes during the generation of biofilms. The mould *Homoconis resinae* is well-known in aircraft tanks as they use the fuel as carbon source. Not only the mycelium and the metabolites can deteriorate the aluminum alloys but the biomass formed on the surface can block the filters.

5.2. Iron and iron alloys

Steels are often applied at industrial scale due to the passive films naturally or artificially formed on their surfaces. The stainless steels are different in grades, in basic composition, in finishing and in the surface treatment. All these effects influence the surface properties [57].

As to the alloying components, the following elements are important:

1. carbon: small quantity is necessary;
2. chromium: increases the hardness, the toughness, at 10.5% the resistance to corrosion;
3. manganese: increases the hardness, makes a steel more stable in the quench and less susceptible for cracking; neutralizes the negative effect of sulfur;
4. nickel: increases the strength, reduces the brittleness and the toughness;
5. molybdenum: increases the hardness, the tensile strength, increases the inhibition of uniform and localizes corrosion;
6. nitrogen, copper: significantly decrease the microbial adhesion [58].

Alloying elements that alter the chemical composition and thickness of passive film, stabilize the protective oxide layer, and alter the susceptibility to MIC.

Steel surfaces are generally resistant to corrosion because of their elemental composition, crystalline homogeneity and surface oxides. When undesired corrosion relevant microorganisms are present they can enhance the metal deterioration through destroying the passive oxide layer.

Very good publications summarize the role of alloying elements in MIC as well as the parameters that influence the microbial adhesion [59, 60].

There is a relationship between the microbial size/morphology/EPS production and the metal surface roughness [61]. The positively charged metal oxides surfaces enhance the microbial attachment as the microbe's surfaces are generally negatively charged.

The period of the microbial reproduction also affects the MIC. On carbon steel the microbial corrosion is accelerated in the exponential (log) growing phase and is stable during the stagnant and declining phase. Not only the bacterial number but the accumulated metabolic products influence the corrosion rate.

The MIC of carbon steel is mainly influenced by the formation of biogenic sulfides (which leads to the breakdown of the passive layer) that is followed by the cathodic depolarization (by hydrogenase enzymes).

The attack of corrosion relevant microorganisms on stainless steel 304 appears in localized corrosion. The presence of *Pseudomonas* bacteria changes the composition of the metal surface; the iron content decreases and the chromium content increases, which is followed parallel by appearance of micro-pits. The molybdenum at concentration >6% (stainless steels 316L) decreases the possibility of MIC.

A good summary on the influence of the alloying elements (Cr, Ni, Mo, Ru) on the microbial adhesion and biofilm formation was published, and the microbiological attack

and biofilm formation (visualized by light and atomic force microscopes) was correlated with the concentration of alloying elements [62]. Data clearly proved that not only the certain alloying content, but their ratio also influences the first microbial adhesion, the biofilm thickness and the chemical composition of the surface oxide layer, and, at the same time, the sensibility to microbial adhesion is also changed. The presence of Mo in the steel not only drastically enhances corrosion resistance but decreases/inhibits the microbiological adhesion. 3D atomic force microscopic images have proven the change in the oxide layer compactness caused by the presence of molybdenum, which can explain the special role of Mo in the MIC.

5.3. Copper and copper alloys

These metals are often used in cooling systems, in heat exchangers (chemical and nuclear power industry). The copper ions can control the microbial growth but corrosion relevant microorganisms can attack the metal and biofilm can grow on its surface [63].

5.4. Titanium

The titanium is a highly corrosion resistant metal. This is the reason that it could be used in highly corrosive environment, also in body fluid, but microorganisms can attach to its surface and form a biofilm [64].

6. Techniques for monitoring and evaluating MIC [65]

The collaboration of different experts is important to investigate the MIC. The microbiologically influenced corrosion should be studied by microbiological methods in order to identify the microbes that take part in the corrosive deterioration. The next step is the combination of the microbial tests with surface analytical methods as well as with electrochemical investigations. Techniques utilized for detection and monitoring of MIC include conventional electrochemical direct current (DC) methods, alternating current (AC) electrochemical impedance spectroscopy (EIS), optical and electron microscopy, atomic force microscopy (AFM), Fourier transform infrared spectrometry (FTIR), scanning vibrating electrode mapping (SVEM), concentric electrode technique, X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and Auger electron spectroscopy (AES) only mention some of them [53, 66, 67].

Other important data on the main operating parameters in the MIC are the follows: flow rate, temperature, pressure, pigging frequency, chemical treatment history, and fluid physico-chemistry and chemical composition that all affect the MIC directly or indirectly.

6.1. Electrochemical methods used to study the MIC

There are several very good summaries on the advantages and disadvantages of electrochemical techniques used for study the MIC [68, 69].

Electrochemical methods applied in MIC research could be divided into main groups:

- no external signal is applied (e.g. measurement of redox potential (E_{r-o}) or corrosion potential (E_{corr}), as well as the electrochemical noise analysis (ENA));
- a small potential or current perturbation is applied (e.g., polarization resistance (R_p) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS));
- the potential is scanned over a wide range (e.g., anodic and cathodic polarization curves, cyclic voltammetry).

The electrodes used in all electrochemical techniques measure the current and/or voltage to estimate the corrosion rate. The surface of the electrode alters in the course of the measurements because the formation of an electric double layer on the electrode surface. Additionally, in the presence of microorganisms, the vial cells build a biofilm; its thickness changes continuously. This is the reason for parallel application of several different electrochemical techniques in order to obtain more precise results on the surface reactions that help explain the mechanism of the MIC [67–70].

Different electrochemical techniques are shortly summarized below.

6.2. Methods without external signal

6.2.1. Redox potential

It measures the oxidizing power of the environment. The potential change of the pre-passivated platinum electrode into the positive direction is the consequence of either the increase of the oxygen concentration or of the decrease in the pH value.

Microorganisms, by their presence or by their metabolic activity can drastically alter the local physico-chemical state at the interface of metal and the environment, which is responsible for the initiation and acceleration of localized corrosion [71, 72].

The advantage of this technique is that it could be used both in laboratory and in field tests. But this method does not give numerical information about the corrosion rate. Additionally, the immersion time (colonization on the electrode surface) influences the result.

6.2.2. Corrosion potential (E_{corr})

The easiest electrochemical test is to monitor the corrosion potential but it gives the least information on the mechanism of the MIC as the reference electrode is not stable because of the continuous biofilm formation. It is not easy to interpret the E_{corr} [72, 73].

It simultaneously measures both the anodic and cathodic processes but only the trends could be assessed [55].

6.2.3. Electrochemical Noise Analysis (ENA)

By electrochemical noise analysis the potential and current fluctuations are measured simultaneously. No external signals are applied that could influence the biofilm formation

and its properties. This technique gives the most accurate and realistic information on the corrosion caused by microorganisms but the interpretation of the curve is not easy [74].

6.2.4. *Micro-sensors*

Micro-sensors, microelectrodes are important tools in biofilm research because they inform about the local environments and measure the local interactions with high spatial resolution at microscale.

In the biofilm the presence and the metabolic activity of the microorganisms produce chemicals. Their concentration profiles provide useful information about the microbial activity and about the mass transport.

Most of micro-sensors used in biofilm research are amperometric micro-sensors that can measure the concentrations of dissolved gases, ions, and organic and inorganic molecules. The important characteristics of the micro-sensors are the tip diameters, sensor surfaces (for optimal spatial resolution), noise level, stability, selectivity [75].

Micro-sensors have been used to establish profiles of mixed species biofilms [76].

6.2.5. *Dual-cell technique*

At this technique a semi-permeable membrane separates two identical electrochemical cells. The dual cell allows the continuous monitoring of changes in corrosion caused by the presence of microbes and the biofilm [77]. Bacteria are present in one of the cells, and the sign and magnitude of the resulting galvanic current are monitored to show the bacterial activity. The dual-cell technique does not inform about the concrete corrosion rate, but monitor the changes in corrosion rate due to the presence of the biofilm.

6.2.6. *Capacitance*

This galvanostatic transient method can determine the capacitance. A constant-current pulse produces an overvoltage–time response. The applied current (I_{app}) generates cathodic overvoltage (η). After amplification through a high-impedance differential amplifier, signals are recorded by computer [72, 73].

6.3. *Methods applying small external signal*

6.3.1. *Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS)*

EIS technique records impedance data as a function of a signal frequency applied at a fixed electrode potential. Generally a large frequency range is investigated [78]. This technique provides information about the properties (compactness, porosity) on the layer formed on the electrode surface by analyzing the polarization resistance values, which informs about the influence of the microorganisms.

6.3.2. Polarization Resistance (R_p) Method

By measuring R_p , the corrosion rate of any metal can be continuously monitored [79].

The exact calculation of i_{corr} for a given time requires simultaneous measurements of R_p and anodic and cathodic Tafel slopes (b_a and b_c). Modern instruments are able to determine the precise values of i_{corr} . A simplification of the polarization resistance technique is the linear polarization technique [80].

Significant fluctuation of R_p with time are often observed for systems undergoing pitting or crevice corrosion because the R_p data are mainly applicable in case of general or uniform corrosion and less in localized corrosion, including MIC. The rapid and easy interpretation of these results is the advantage of the polarization resistance method. It shows good correlation with results got by gravimetric method.

6.4. Methods applying large signal polarization

These techniques require potential scans ranging from several hundred millivolts to several volts. Potentiostatic or potentiodynamic polarization curves as well as pitting scans use large signal polarization [81]. Polarization curves can be used to determine corrosion currents (i_{corr}) by Tafel extrapolation. Information can be obtained from experimental values of the anodic and cathodic Tafel slopes (b_a and b_c). Pitting scans are used to determine the pitting potential (E_{pit}) and the protection potential (E_{prot}).

Polarization curves could be used to determine the effects of microorganisms colonized on metal surfaces on the electrochemical processes [53].

The advantage of this technique is that it can be used under laboratory and field conditions and the interpretation of data is easy. But because of the large polarization signal, irreversible changes in surface properties could happen due to the application of large anodic or cathodic potentials (that can influence the microbial behavior, the growth and multiplication and the biofilm formation).

7. Surface analytical methods

7.1. Microscopic techniques

Microscopy (optical, electron, and scanning probe) has advantages and disadvantages though in the last decades the microscopic methods are improved concerning the microorganism's interaction with surfaces [83].

The visualization of microorganisms is not very easy because during multiplication they change their size and form, excrete chemicals. Their surface character is constantly changes, which is due to the EPS production. Three microscopic techniques are mainly applied in the MIC study. Confocal laser microscopy, scanning electron microscopy together with the environmental scanning electron microscopy and atomic force microscopy; all allow the visualization of microorganisms and observation of biofilm

formation in real time. There are other microscopic techniques developed to visualization of MIC. [84].

7.1.1. Scanning electron microscopy (SEM), environmental scanning electron microscopy (ESEM)

SEM produces images of a sample by scanning it with a focused electron beam. A traditional SEM can produce images either by backscattered and/or by secondary electrons; and additionally, X-ray scattering can inform about the chemical composition of the solid surface [85].

Though SEM produces photographic information on a sample, but cannot quantitatively characterize the sample surface. SEM operates under high vacuum, which is a significant drawback in the study of MIC because of the dehydration of the microorganisms and the EPS around them.

The ESEM was developed by substantial alteration of SEM when only a part of the electrons scans the sample and that allows the measurement at less high vacuum (at higher pressure). This allows that the specimens are measured in their natural state by ESEM, which helps the visualization of biological samples in natural form. ESEM is useful tool to demonstrate the real structure of biofilms, cells embedded in the extracellular matrices on solid surfaces [86].

7.1.2. Atomic force microscopy (AFM)

Atomic force microscopy is based on the measurement of force between the scanning tip and the sample surface under investigation. From the MIC point of view, the 3D imaging (providing important information on the form, length, width, outer part of microbial cells) and the force measurements are mostly used. [88, 89].

In contrast to the SEM, the advantage of AFM is the higher resolution and, especially, that it does not require high vacuum. The measurement happens either in contact or non-contact mode, and, additionally, in tapping mode, which is very beneficial in case of soft, biological samples. AFM is able for topographical imaging of bacteria, biofilm, and corroded steel surfaces in high-resolution, and for quantification of localized corrosion by the so-called “section analysis” [90–94] (Figure 4,8).

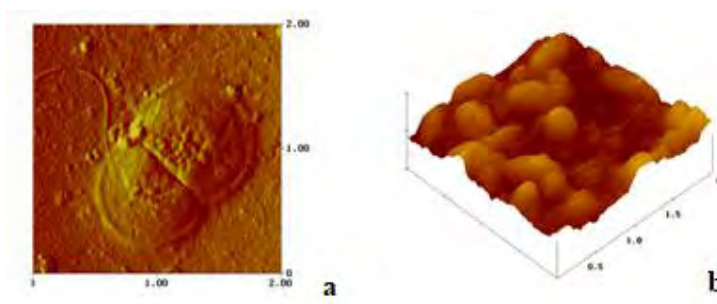


Figure 8. Microorganisms visualized by AFM; a: fission of an aerobe, its flagellum is well visible; b: *Desulfovibrio desulfuricans* cells on a solid surface ($z = 300$ nm).

7.1.3. Confocal Laser Microscopy (CLM)

CLM is widely used in biological sciences. A laser light provides intense, coherent, collimated light necessary to penetrate into a thick specimen. The laser light excites fluorophores. Images of the x – y plane (parallel to the surface) are collected automatically as a computer-controlled stepping motor alters the z dimension (depth). The CLM provides 3D structures in micrometer range and shows the biofilm architecture in the native state: hydrated, living cells within the exopolymeric matrix [95].

7.1.4. Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM)

A laser beam, which passes the surface and excites fluorophores, is focused onto an area of the sample by an objective lens, and the emitted photons collected from the sample constitute images in 3D about the pre-selected depth level and time. The CLSM is suitable for *in situ* studying biofilms, and monitoring their formation. The importance of this method is that the microorganisms are visualized in their viable form; the distribution of the microbes within the biofilm is also monitored. Additionally, visualization of the interaction of bacteria (or other, corrosion relevant microorganisms) with the solid surface could help in understanding the MIC and it enables the kinetic study of MIC [96]

7.1.5. Confocal Raman Microscopy (CRM)

The spectral information of confocal microscopy can be absorption, reflection, transmission, emission, photoluminescence, fluorescence or Raman spectroscopy. In the 1990s micro-Raman spectroscopy was elaborated. The advantage of this microscope is the high collection efficiency of the Raman signal. This technique could extract the relevant chemical information from each spectrum and create a map on the distribution of the chemical components with a few micrometers lateral resolution [97].

In biological samples with microbial cells infrared spectra can inform on cellular components. The advantage of this technique is that it is applicable both in laboratory and under industrial conditions and it does not need any sample preparation. The usefulness of this method was proven by several research groups [98–100].

7.2. Piezoelectric methods: Quartz crystal microbalance (QCM)

QCM uses acoustic waves generated by oscillating a piezoelectric, single crystal quartz plate to measure mass variations. QCM is a sensitive gravimetric tool that can be used in biofilm and MIC related studies. The advantage of the QCM is the high sensitivity ($\text{ng}\cdot\text{cm}^{-2}$), and continuous *in situ* data collection. This is a nondestructive monitoring technique, which could be combined with other methods like with voltammetry, EIS, optical spectroscopy, *etc.* QCM as a gravimetric tool can monitor the kinetics of bacterial mass accumulation during the biofilm formation [101–105].

The limitation of this technique is due to the viscoelastic nature of biofilms. This was the reason for developing a modified quartz crystal microbalance with dissipation mode

(QCM-D). The time-dependent changes in the dissipation energy (ΔD) and crystal frequency (Δf) predict the adhesion behavior of bacteria, which allows to follow the microbial interaction and the adhesion processes with the solid surface [106].

Though the QCM is an easy-to-use, low-cost device, it is not extensively applied in research laboratories for studying biofilms and MIC related microorganisms.

7.3. Spectroscopic analytical methods

Concerning the problems around the MIC, two methods are worthwhile to discuss: Fourier transform infrared spectroscopy and X-ray photoelectron spectroscopy.

7.3.1. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

The applicability of FTIR in biofilm study was recognized more than 20 years ago, when it was realized that by this technique the microorganisms could be identified in a non-invasive way as fingerprints of microorganisms.

The wavelength interesting in MIC study ranges between 2.5 and 20 μm (in the medium infrared waves). The adsorption bands expressed in wavenumbers are proportional to the absorbed energy. In the spectrum the functional groups are represented in the range of 4000 and 1500 cm^{-1} and the deformation, bending and ring vibrations are below 1500 cm^{-1} . This range could be the “fingerprint” of molecules.

In a flow cell the adhesion mechanisms between the biofilm and the solid surface was analyzed and it was proven that the binding process was initialized by the EPS. The microorganisms could be analyzed alone or embedded in EPS [107–109].

The disadvantage of the FTIR technique in the MIC analysis is that it cannot differentiate between living and dead cells, and the high water content of the biofilm disturbs the spectrum.

7.3.2. X-Ray Photoelectron Spectroscopy (XPS)

The samples are placed into ultra-high vacuum chamber, and are irradiated with X-ray that leads to formation of photoelectrons. These photoelectrons with their characteristic energies represent the atoms. The intensities of spectra are proportional to the concentration of atoms and indicate their oxidation states, *i.e.* the XPS spectrum gives information about the surface composition and about its chemical states [110, 111].

XPS can also inform about the microbial cell surface composition that represents mainly three molecular classes like polysaccharides, peptides and hydrocarbon-like compounds. XPS measurement on SRB anaerobic biofilms showed the oxygen depleted areas where sulfate reduction led to sulfide ion by SRB that caused thinning of the passive film and initiation of pitting attack [112]. In the research of MIC the disadvantage of the XPS technique is that it needs ultra-high vacuum where the hydrated samples will be dehydrated and it is not applicable under industrial conditions.

8. Mechanisms of the biocorrosion

The mechanism of the MIC depends on the types of microbes associated with the corrosion, on their metabolites, on the composition of the EPS and on its exo-enzymes. It is important to emphasize that a multicultural microbial colonies cause much higher corrosion rate than a pure corrosion relevant microbial culture.

There are several descriptions of the MIC mechanisms. The most important reaction is the anodic metal dissolution; and the reduction on the cathode. To understand the metal-microbe interaction, we have to take into account that under different conditions solid precipitates can form. The anaerobic microorganisms produce sulfide ions, which will result in the formation of insoluble iron sulfide. When oxygen is present, aerobic microbes produce solid metal oxides/hydroxides. According to the electron transfer hypothesis, electron transfer could take place through the EPS from the metal to the electron acceptor *i.e.* to the oxygen. Enzymes embedded in the biofilm as well as metal ions bound to bacterial EPS can also catalyze the cathodic reaction. For long time the hydrogen-consuming enzymes were considered to increase the corrosion rate. Now it is obvious that there are other enzymes (*e.g.* cellular catalyzes), that influence the MIC. In the classical theory the sulfate reducer bacteria increase the corrosion rate through the electron transport from the metal surface to the microbial sulfate reduction pathway. The important role of hydrogenase enzymes in the anaerobic MIC is reconfirmed.

King and Miller in 1971 [113] proposed other interesting mechanism. They emphasized that the solid iron sulfide is the absorber of the molecular hydrogen. The iron sulfide covered area constitutes the cathode, and the biofilm behaves as an anode. This leads to high galvanic corrosion rate with increased iron dissolution.

Romero in 2005 [114] worked out the mechanism of sulfate reducing bacteria in MIC of iron. According to his theory the first is the bacterial adsorption and iron sulfide production and then a micro-galvanic cell formation through the metallic surface and the iron sulfide. In the second stage the bacteria and the inorganics are in equilibrium. The third stage is controlled by the local pH, the pyrite is reduced to mackinawite and severe localized corrosion starts. Galvanic corrosion is generated between the anodic metal and the cathodic iron sulfide with different compositions (without hydrogen permeation due to the barrier effect of the EPS). This is characteristic for the microorganisms in the exponentially growing period, which results in enough hydrogen sulfide ions. The most important steps are the biofilm formation and stabilization with hydrogen permeation, sulfidization and localized galvanic corrosion.

According to the recently described MIC mechanism on stainless steel in the presence of biofilm formed by sulfate reducer bacteria, iron oxidation happens on the outside of sessile cells while the utilization of the electrons released by the oxidation process for sulfate reduction occurs in the bacterial cell cytoplasm. In this case, cross-cell wall electron transfer is achieved by electrogenic biofilm. It is clear that the most important step in the MIC is the electron transfer. Both the riboflavin and flavin adenine dinucleotide, two

common electron mediators enhance the electron transfer and accelerate the pitting corrosion (Figure 9)].

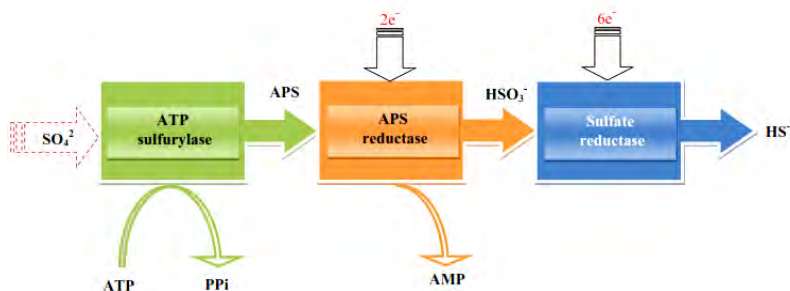


Figure 9. Microbial reductions of sulfate ions into sulfide [115].

In the latest review on the MIC mechanisms the concept of bioenergetics, electron-transfer theories and respiration types are discussed. When an environment lacks carbon source and other electron-donors that are necessary for the energy metabolisms, the microorganisms can utilize elemental iron or other energetic metals as electron-donors. This will lead to MIC. Two main types of anaerobic MIC on metals are classified according to the microbial respiration types. One is the extracellular electron transfer-MIC (EET-MIC) and the other one the metabolic MIC (M-MIC). These explanations show how MIC processes occur and how they are dependent on the environmental conditions. The characteristics of EET-MIC and M-MIC mechanisms provide useful insights into MIC by sulfate reducing, nitrate reducing and acid producing bacteria that are dominant in the anaerobic MIC processes [116, 117].

9. Summary

The paper has aimed to introduce a special type of corrosion, *i.e.* the microbiologically influenced corrosion and to explain that this is not a new type of metal corrosion but the microorganisms by their present, by the excreted metabolites with aggressive components (sulfide, organic and inorganic acids *etc.*) and with the glue-like exopolymeric substances enhance the chemical and electrochemical corrosion rate. The corrosion relevant microbes (both the anaerobes and the aerobes) were introduced and characterized, and their corrosion enhancing activity demonstrated. The formation of biofilms –built of microorganisms, of high water and inorganic and organic material content – was followed and the importance of the microorganisms built in the biomatrix was explained. Different measuring techniques were introduced that are useful in the research of the MIC, with emphasis on their advantages and disadvantages in study of MIC. The development in the explanation of MIC mechanisms, *i.e.* the history of the attack of corrosion relevant microbes, is also involved into the paper, which allows the demonstration how complex the microbial corrosion is.

References

1. J.H. Garrett, *The action of water on lead*, 1891, H.K. Lewis, London.
2. R.H. Gaines, Bacterial Activity as a Corrosive Influence in the Soil, *J. Ind. Eng. Chem. (Washington, D. C.)*, 1910, **2**, 128–130. doi: [10.1021/ie50016a003](https://doi.org/10.1021/ie50016a003)
3. C.A.H. Von W. Kühr and L.S. van der Vlucht, Graphitization of cast iron as an electro-biochemical processes in anaerobics, *Water*, 1934, **18**, no. 16, 147.
4. E. Miranda, M. Bethencourt, F.J. Botana, M.J. Canob, J.M. Sanchez-Amaya, A. Corzoc, J. Carciade Lomasc, M.L. Fardeaua and B. Olliviera, Biocorrosion of Carbon steel alloys by an Hydrogenotrophic Sulfat-Reducing Bacterium *Desulfovibrio capillatus* isolated from a Mexican Oil Field Separator, *Corros. Sci.*, 2006, **48**, 2417–2431. doi: [10.1016/j.corsci.2005.09.005](https://doi.org/10.1016/j.corsci.2005.09.005)
5. E.S. Bastin, F.E. Greer, C.A. Merritt and G. Moulton, The presence of sulfate-reducing bacteria in oil field waters, *Science*, 1926, **63**, 21–24. doi: [10.1126/science.63.1618.21](https://doi.org/10.1126/science.63.1618.21)
6. C.E. Zobell, The Effect of Solid Surfaces upon Bacterial Activity, *J. Bacteriol.*, 1943, **46**, 39–56.
7. H.A. Videla, *Manual of Biocorrosion*, 1996, CRC Press: Boca Raton, FL, pp 272.
8. B.J. Little and J.S. Lee, Microbiologically influenced corrosion: an update, *Int. Mater. Rev.*, 2014, **59**, no. 7, 384–393. doi: [10.1179/1743280414Y.0000000035](https://doi.org/10.1179/1743280414Y.0000000035).
9. W.G. Charaklis, M.J. Nimmons, B.F. Picolouglou, Biofilms and microbial fouling, *Adv. Appl. Microbiol.*, 1983, **29**, 93–138. doi: [10.1016/S0065-2164\(08\)70355-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70355-1)
10. W.G. Charaklis, M.J. Nimmons and B.F. Picolouglou, Influence of fouling biofilms on heat transfer, *Heat Transfer Eng.*, 1981, **3**, 23–37. Published online: 27 Mar. 2007. doi: [10.1080/01457638108939572](https://doi.org/10.1080/01457638108939572)
11. B.E. Christensen and W.G. Charaklis, *Biofilms*, 1990, J. Wiley, N.Y., 796.
12. A.M. Rouhi, The Squeeze On Tributyltins, *Chem. Eng. News*, 1998, **76**, 41–42. doi: [10.1021/cen-v076n017.p041](https://doi.org/10.1021/cen-v076n017.p041)
13. J.V. Costerton, K.-J. Cheng, J.C. Nickel, M. Dasgupta, T.J. Marie, G.G. Geesey and T.I. Ladd, Bacterial biofilms in nature and disease, *Annu. Rev. Microbiol.*, 1987, **41**, 435–434. doi: [10.1146/annurev.mi.41.100187.002251](https://doi.org/10.1146/annurev.mi.41.100187.002251)
14. H.-C. Flemming, T. Griebe and G. Schaule, Antifouling strategies in technical systems — A short review, *Water Sci. Technol.*, 1996, **34**, 517–524. doi: [10.1016/0273-1223\(96\)00687-7](https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00687-7)
15. A.W. Decho, Microbial exopolymer secretions in ocean environments: their role(s) in food webs and marine processes, *Biol. Annual. Rev.*, 1990, **28**, 73–153.
16. P.A. Wilderer and W.G. Charaklis, [Chemistry of Aquatic Systems: Local and Global Perspectives](#), *Dahlem Workshop*, 1988, J. Wiley & Sons, 5–17.
17. H.G. Hoppe, in: *Microbial Adhesion and Aggregation*, Springer Verlag, Berlin, Ed.: K.C. Marshall, 1984, 283–301.

18. J.-H. Chen, L.W. Lion, W.C. Ghiorse and M.L. Shuler, Mobilization of adsorbed cadmium and lead in aquifer material by bacterial extracellular polymers, *Water Res.*, 1995, **29**, 421–430. doi: [10.1016/0043-1354\(94\)00184-9](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)00184-9)
19. A. Jahn and P.H. Nielsen, Cell biomass and exopolymer composition in sewer biofilm, *Wat. Sci. Technol.*, 1998, **37**, 17–24. doi: [10.1016/S0273-1223\(97\)00751-8](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00751-8)
20. S. Comte, Interactions entre des exopolymères extraits de biomasses épuratoires et les métaux, THESE N° 2005-53, Docteur de l'Université de Limoges, 2005.
21. R.M. Donlan, Biofilms: Microbial Life on Surfaces, *Emerging Infect. Dis.*, 2002, **8**, no. 9, 881–890. doi: [10.3201/eid0809.020063](https://doi.org/10.3201/eid0809.020063)
22. P.G. Rouxhet and N. Mozes, Physical chemistry of the interaction between attached microorganisms and their support, *Water Sci. Technol.*, 1990, **22**, 1–16. doi: [10.2166/wst.1990.0131](https://doi.org/10.2166/wst.1990.0131)
23. J.H. Pringle and M. Fletcher, Influence of substratum wettability on attachment of freshwater bacteria to solid surfaces, *Appl. Environ. Microbiol.*, 1983, **45**, 811–817.
24. D.J. Uhlig and D.C. White, Relationship between physiological status and formation, *Appl. Environm. Microbiol.*, 1988, **45**, 64–67.
25. B. Frølund, T. Giebe and P.H. Nielsen, Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1995, **43**, 755–761.
26. W.G. Charaklis, “Microbial Fouling Control” in: *Biofouling*, Eds.: W.G. Charaklis and K.C. Marshall, J. Wiley, N.Y, 1990.
27. *Microbial Biofilms: Current Research and Applications*, Eds: G. Lear and G.D. Lewis, Caister Academic Press, New Zealand, 2012, ISBN: 978-1-904455-96-7.
28. H.C. Flemming, J. Wingender, R. Moritz, W. Borchard and C. Mayer, Physio-chemical properties of biofilms: a short review, *Biofilms in the aquatic environment*, Eds.: C.W. Keevil, A. Godfree, D. Holt and C. Dow, Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry, 1999, 1–12.
29. P. Stoodley, K. Sauer, D.G. Davies and J.W. Costerton, Biofilms as complex differentiated communities, *Annu. Rev. Microbiol.*, 2002, **56**, 187–209.
30. A.I. Railkin, *Marine biofouling colonization processes and defenses*, Boca Raton, FL: CRC Press, 2004.
31. J.W. Costerton, G.G. Geesey and K.J. Chang, How bacteria stick, *Sci. Am.*, 1978, **238**, 86–96. doi: [10.1038/scientificamerican0178-86](https://doi.org/10.1038/scientificamerican0178-86)
32. J.W. Costerton, Z. Lewandowski, D.E. Caldwell, D.R. Corber and H.M. Lappin-Scott, Microbial biofilm, *Annu. Rev. Microbiol.*, 1995, **49**, 711–745.
33. S.W. Borenstein, Microbiologically Influenced Corrosion. Handbook, in: *Woodhead Publishing Series in Metals and Surface Engineering*, Woodhead Publishing, Cambridge, UK, 2004. doi: [10.1533/9781845698621.frontmatter](https://doi.org/10.1533/9781845698621.frontmatter)
34. J. Telegdi, A. Shaban, L. Trif, Chapter 8: Microbiology-Influenced Corrosion (MIC). in: *Trends in Oil and Gas Corrosion Research and Technologies, 1st Edition, Production and Transmission*, Ed.: A.M. El-Sherik, Elsevier, Woodhead Publishing, 2017, 191–214, ISBN: 978-0-08-101105-8.

-
35. J. Telegdi, Microbiologically Influenced Corrosion; Chapter 6, Ed.: K. Demadis, In: *Water Treatment Processes*, Nova Science Publisher, 2012, 145–167.
 36. J. Telegdi, T. Szabó, F. Al-Taher, É. Pfeifer, E. Kuzmann and A. Vértes, Coatings against corrosion and microbial adhesion, *Mater. Corros.*, 2010, **61**, no. 12, 1001–1007. doi: [10.1002/maco.201005797](https://doi.org/10.1002/maco.201005797)
 37. J. Telegdi, L. Románszki, F. Al-Taher, É. Pfeifer and E. Kálmán, Nanolayers against microbial adhesion, *NACE Int. Corros.*, 2009, p. no. 3987.
 38. G. Diósi, J. Telegdi, Gy. Farkas, L.G. Gázsó and E. Bokori, Corrosion influenced by biofilms during wet nuclear waste storage, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 2003, **51**, no. 2, 151–156. doi: [10.1016/S0964-8305\(02\)00138-5](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(02)00138-5)
 39. P. Gumpel, N. Arlt, J. Telegdi, D. Schiller and O. Moose, Microbiological influence on the electrochemical potential of stainless steel, *Mater. Corros.*, 2006, **57**, 715–723. doi: [10.1002/maco.200503962](https://doi.org/10.1002/maco.200503962)
 40. J. Telegdi, A. Shaban, J. Beczner, Zs. Keresztes and E. Kálmán, Biofilm formation controlled by quartz crystal nanobalance, *Mater. Sci. Forum*, 1998, **289–292**, 77–82. doi: [10.4028/www.scientific.net/MSF.289-292.77](https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/MSF.289-292.77)
 41. B. El Gammudi, I. El Musrati, A. Bourgheya and A. El Tawil, Microscopic study of bacterial attachment on AISI 304 and AISI 316 stainless steel, *Int. J. Integr. Biol.*, 2008, **42**, 72–77.
 42. J. Telegdi, L. Trif, L. Románszki, Chapter 9: Smart anti-biofouling composite coatings for naval applications, in: *Smart composite coatings and membranes: Transport, structural, environmental and energy applications*, Ed.: M.F. Montemor, Woodhead Publishing, 2016, 123–155. ISBN:978-1-78242-283-9
 43. C. Hellio and D. Yebra, *Advances in marine antifouling coatings and technologies*, Boca Raton, FL: CRC Press, 2009.
 44. Y.C. Jung and B. Bhushan, Wetting behavior of water and oil droplets in three-phase interfaces for hydrophobicity/philicity and oleophobicity/philicity, *Langmuir*, 2009, **25**, 14165–14173. doi: [10.1021/la901906h](https://doi.org/10.1021/la901906h)
 45. J. Genzer and K. Efimenko, Recent developments in superhydrophobic surfaces and their relevance to marine fouling: a review, *Biofouling*, 2006, **22**, 339–360. doi: [10.1080/08927010600980223](https://doi.org/10.1080/08927010600980223)
 46. ASM International, Corrosion in the Petrochemical Industry, Second ed., Ed.: V. Burt, Essential Research, ASM International, 2015, 426.
 47. G. Keramas, D.D. Bang, M. Lund, M. Madsen, H. Bunkenborg, P. Telleman and C.B.V. Christensen, Use of Culture, PCR Analysis, and DNA Microarrays for Detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from Chicken Feces, *J. Clin. Microbiol.*, 2004, **42**, no. 9, 3985–3991. doi: [10.1128/JCM.42.9.3985-3991.2004](https://doi.org/10.1128/JCM.42.9.3985-3991.2004)
 48. R. Eckert and T.L. Skovhus, Using Molecular Microbiological Methods to Investigate MIC in the Oil and Gas Industry, *Materials Performance*, 2011, **50**, no. 8, 50–54.

-
49. I.B. Beech, Corrosion of technical materials in the presence of biofilms – Current understanding and state-of-the art methods of study, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 2004, **53**, no. 3, 177–183. doi: [10.1016/S0964-8305\(03\)00092-1](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(03)00092-1).
 50. H. Mansouri and S.A. Alavi, A study of microbial influenced corrosion in oil and gas industry, Conference Paper, (Teheran) The 1st International Conference of Oil, Gas, Petrochemicals and Power Plants, 2012, 15–27. doi: [10.13140/RG.2.1.3117.8089](https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3117.8089)
 51. W. Teugleus, N.V. van Assche, I. Sliepen and M. Quirynen, Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development, *Clin. Oral Implants Res.*, 2006, **17**, 68–81. doi: [10.1111/j.1600-0501.2006.01353.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2006.01353.x)
 52. D. Clover, B. Kinsella, B. Pejčić and R. DeMarco, The influence of microstructure on the corrosion rate of various carbon steels, *J. Appl. Electrochem.*, 2005, **35**, 139–149. doi: [10.1007/s10800-004-6207-7](https://doi.org/10.1007/s10800-004-6207-7)
 53. J.B. Little and J.S. Lee, *Microbiologically Influenced Corrosion*, Wiley, Hoboken, NJ, 2007.
 54. R. Bhola, S.M. Bhola, B. Mishra and D.L. Olson, Microbiologically Influenced Corrosion and Its Mitigation: A review, *Mater. Sci. Res. India*, 2010, **7**, no. 2, 407–412. doi: [10.13005/msri/070210](https://doi.org/10.13005/msri/070210)
 55. R. Javaherdashtri, *Microbiologically Influenced corrosion: An Engineering Insight*, Springer, London, 2008.
 56. B. Little, P. Wagner and F. Mansfeld, Microbiologically influenced corrosion of metals and alloys, *Int. Mater. Rev.*, 1991, **36**, 253–272. doi: [10.1179/imr.1991.36.1.253](https://doi.org/10.1179/imr.1991.36.1.253).
 57. C-O.A. Olsson and D. Landol, Passive films on stainless steels-chemistry, structure and growth, *Electrochim. Acta*, 2003, **48**, 1093–1104. doi: [10.1016/S0013-4686\(02\)00841-1](https://doi.org/10.1016/S0013-4686(02)00841-1)
 58. K.C. Hwanga, S. Lee and H.Ch. Leeb, Effects of alloying elements on microstructure and fracture properties of cast high speed steel rolls: Part I: Microstructural analysis, *Mater. Sci. Eng.: A*, 1998, **254**, no. 1–2, 282–295. doi: [10.1016/S0921-5093\(98\)00626-1](https://doi.org/10.1016/S0921-5093(98)00626-1).
 59. H.A. Videla, Biocorrosion and biofouling of metals and alloys of industrial usage; Present state of the art at the beginning of the new millennium, *Rev. Metal. (Madrid, Spain)*, 2003, 256–264. doi: [10.3989/revmetalm.2003.v39.iExtra.1128](https://doi.org/10.3989/revmetalm.2003.v39.iExtra.1128)
 60. M. Hocevar, M. Jenko, M. Godec and D. Drobne, An overview of the influence of the stainless steel surface properties on bacterial adhesion, *Mater. Tehnol.*, 2014, **48**, no. 5, 609–617.
 61. C. Díaz, M.C. Cortizo, P.L. Schilardi, et al., Influence of the Nano-micro structure of the surface on bacterial adhesion. *Mater. Res.*, 2007, **10**, no. 1. doi: [10.1590/S1516-14392007000100004](https://doi.org/10.1590/S1516-14392007000100004)
 62. J. Telegdi, Influence of alloying elements on adhesion of corrosion relevant bacteria, *Corrosion Protection (Ochrona przed Korozja)*, 2018, **61**, 15–19. doi: [10.15199/40.2018.6.2](https://doi.org/10.15199/40.2018.6.2)

-
63. J.R. Ibars, J.L. Polo, D.A. Moreno, C. Ranninger and J.M. Bastidas, An impedance study on admiralty brass dezincification originated by Microbiologically Influenced Corrosion, *Biotechnol. Bioeng.*, 2004, **87**, 856–862. doi: [10.1002/bit.20197](https://doi.org/10.1002/bit.20197)
64. D.A. Moreno, E. Cano, J.R. Ibars, J.L. Polo, F. Montero and J.M. Bastidas, Initial stages of microbiologically influenced tarnishing on titanium after 20 months of immersion in freshwater, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2004, **64**, 593–598. doi: [10.1007/s00253-003-1472-7](https://doi.org/10.1007/s00253-003-1472-7)
65. L. Trif, A. Shaban and J. Telegdi, Electrochemical and surface analytical techniques applied to microbiologically influenced corrosion investigation, *Corros. Rev.*, 2018, **36**, no. 4, 1–15. doi: [10.1515/correv-2017-0032](https://doi.org/10.1515/correv-2017-0032)
66. B.L. Little, P. Wagner and F. Mansfeld, An overview of microbiologically influenced corrosion, *Electrochim. Acta*, 1992, **37**, 2185–2194. doi: [10.1016/0013-4686\(92\)85110-7](https://doi.org/10.1016/0013-4686(92)85110-7)
67. B.L. Little, F. Mansfeld, P.J. Arps and J.C. Earthman, Microbiologically influenced Corrosion, In: *Encyclopedia of Electrochemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2007. doi: [10.1002/9783527610426.bard040603](https://doi.org/10.1002/9783527610426.bard040603)
68. S.C. Dexter, O.W. Siebert, D.J. Duquette and H. Videla, Use and limitation of electrochemical techniques for investigating microbiological corrosion, *Corrosion*, 1989, paper no. 616. doi: [10.5006/1.3585258](https://doi.org/10.5006/1.3585258)
69. W. Wang, J. Wang, H. Xu and X.B. Li, Electrochemical techniques used in MIC studies, *Mater. Corros.*, 2006, **57**, no. 10, 800–804. doi: [10.1002/maco.200503966](https://doi.org/10.1002/maco.200503966)
70. B.J. Little, P.A. Wagner, Application of Electrochemical Techniques to the Study of Microbiologically Influenced Corrosion, in: J.O. Bockris, B.E. Conway and R.E. White (eds.), *Modern Aspects of Electrochemistry. Modern Aspects of Electrochemistry*, 2002, **34**, 205–246, Springer, Boston, MA. doi: [10.1007/0-306-46923-5_5](https://doi.org/10.1007/0-306-46923-5_5)
71. X. Zhang, R.A. Buchanan, E.E. Stansbury and N.J.E. Dowling, Electrochemical responses of structural materials to microbially influenced corrosion, *CORROSION'89, NACE International*, Houston, 1989, TX. No.512.
72. B.L. Little and P.A. Wagner, Application of electrochemical techniques to the study of MIC, In: *Modern Aspects of Electrochemistry*, New York: Kluwer Academic, Plenum Publishers, 2001.
73. W.H. Dickinson, F. Caccavo and Z. Lewandowski, The ennoblement of stainless steel by manganic oxide biofouling, *Corros. Sci.*, 1996, **38**, 1407–1422. doi: [10.1016/0010-938X\(96\)00031-5](https://doi.org/10.1016/0010-938X(96)00031-5)
74. U. Bertocci, C. Gabrielli, F. Huet and M. Keddam, Noise resistance applied to corrosion measurements. I. Theoretical analysis, *J. Electrochem. Soc.*, 1997, **144**, 31–37. doi: [10.1149/1.1837361](https://doi.org/10.1149/1.1837361)
75. W. Lee and D. de Beer, Oxygen and pH microprofiles above corroding mild steel covered with a biofilm, *Biofouling*, 1995, **8**, 273–280. doi: [10.1080/08927019509378280](https://doi.org/10.1080/08927019509378280)

-
76. Z. Lewandowski, MIC and biofilm heterogeneity, CORROSION/2000, *NACE International*, Houston, TX, 2000, No. 400.
77. R.B. Miller, A. Sadek, A. Rodriguez, M. Iannuzzi, C. Giai, J. Senko and C.N. Monty, Use of an Electrochemical Split Cell Technique to Evaluate the Influence of *Shewanella oneidensis* Activities on Corrosion of Carbon Steel, Ed.: A. Al-Ahmad, *PLoS ONE*, 2016, 11, 1 e0147899. doi: [10.1371/journal.pone.0147899](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147899).
78. P.L. Beese, H. Venzlaff, J. Srinivasan, J. Garrelfs, M. Stratmann and K.J. Mayrhofer, Monitoring of anaerobic microbially influenced corrosion *via* electrochemical frequency modulation, *Electrochim. Acta*, 2013, **105**, 239–247. doi: [10.1016/j.electacta.2013.04.144](https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.04.144)
79. F. Mansfeld, The polarization resistance technique for measuring corrosion currents, in *Advances in Corrosion Science and Technology*, Eds.: M.G. Fontana and R.W. Staehle, New York, Plenum Press, 1976, 6, 163–262.
80. F. Mansfeld and B. Little, A technical review of electrochemical techniques applied to microbiologically influenced corrosion, *Corros. Sci.*, 1991, **32**, no. 3, 247–272. doi: [10.1016/0010-938X\(91\)90072-W](https://doi.org/10.1016/0010-938X(91)90072-W)
81. G. Schmitt, Sophisticated electrochemical methods for MIC investigation and monitoring, *Mater. Corros.*, 1997, **48**, 586–601. doi: [10.1002/maco.19970480905](https://doi.org/10.1002/maco.19970480905)
82. Uhlig's Corrosion Handbook, Third ed., Ed.: R.W. Revie, John Wiley & Sons INC, 2011.
83. A. Steele, D. Goddard and I. Beech, The use of atomic force microscopy in study of the biodeterioration of stainless steel in the presence of bacterial biofilms, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 1990, **34**, 35–46. doi: [10.1016/0964-8305\(94\)90018-3](https://doi.org/10.1016/0964-8305(94)90018-3)
84. Y.F. Dufrêne, Application of atomic force microscopy to microbial surfaces: from reconstituted cell surface layers to living cells, *Micron*, 2001, **32**, 153–165. doi: [10.1016/S0968-4328\(99\)00106-7](https://doi.org/10.1016/S0968-4328(99)00106-7)
85. R.S. Khandpur, *Handbook of Analytical Instruments*, Third ed., McGraw Hill Education (India) Private Limited, 2015.
86. A.B. Ronner and A.C.L. Wong, Biofilm development and sanitizer inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* on stainless steel and buna-n rubber, *J. Food Prot.*, 1993, **56**, 750–758. doi: [10.4315/0362-028X-56.9.750](https://doi.org/10.4315/0362-028X-56.9.750)
87. J.W. Arnold and G.W. Bailey, Surface finishes on stainless steel reduce bacterial attachment and early biofilm formation: scanning electron and atomic force microscopy study, *Poult. Sci.*, 2000, **79**, 839–845. doi: [10.1093/ps/79.12.1839](https://doi.org/10.1093/ps/79.12.1839)
88. S.A. James, L.C. Powell and C.J. Wright, Atomic Force Microscopy of Biofilms—Imaging, Interactions, and Mechanics, (chapter 6), In: *Microbial Biofilms – Importance and Applications*, Ed.: D. Dhanasekaran, InTech, 2016. doi: [10.5772/63312](https://doi.org/10.5772/63312)
89. G. Binnig, C. Quate and Ch. Gerber, Atomic force microscope, *Phys. Rev. Lett.*, 1986, **56**, 930–933. doi: [10.1103/PhysRevLett.56.930](https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.56.930)

-
90. L.Ch. Xua, K-Y. Chanb and H.H.P. Fanga, Application of atomic force microscopy in the study of microbiologically influenced corrosion, *Mater. Charact.*, 2002, **48**, 195–203. doi: [10.1016/S1044-5803\(02\)00239-5](https://doi.org/10.1016/S1044-5803(02)00239-5)
91. L.C. Xu, H.H.P. Fang and K.Y. Chan, Atomic force microscopy study of microbiologically influenced corrosion of mild steel, *J. Electrochem. Soc.*, 1999, **146**, 4455–4460. doi: [10.1149/1.1392658](https://doi.org/10.1149/1.1392658)
92. S. Stroes-Gascoyne and J.M. West, An overview of microbial research related to high-level nuclear waste disposal with emphasis on the Canadian concept for the disposal of nuclear fuel waste, *Can. J. Microbiol.*, 1996, **42**, no. 4, 349–366. doi: [10.1139/m96-051](https://doi.org/10.1139/m96-051)
93. J. Telegdi, J. Beczner, Zs. Keresztes, F.H. Kármán and E. Kálmán, Inhibition of microbiologically induced corrosion, In: *Microbial degradation processes in radioactive waste repository and in nuclear fuel storage areas*, Eds.: J.H. Wolfram, R.D. Rogers and L.G. Gazso, Kluwer Academic Publisher *NATO ASI Series, I. Disarmament Technologies*, 1997, 178–186.
94. J. Telegdi, Zs. Keresztes, G. Pálinkás, E. Kálmán and W. Sand, Microbially influenced corrosion as revealed by atomic force microscopy, *Appl. Phys. A*, 1998, **66**, S639–S642. doi: [10.1007/s003390051215](https://doi.org/10.1007/s003390051215)
95. M. Kuehn, M. Hausner, H-J. Bungartz, M. Wagner, P.A. Wilderer and S. Wuertz, Automated confocal laser scanning microscopy and semi-automated image processing for analysis of biofilms, *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, **64**, 4115–4127. doi: [10.1128/AEM.64.11.4115-4127.1998](https://doi.org/10.1128/AEM.64.11.4115-4127.1998)
96. H. Li, E. Zhou, D. Zhang, D. Xu, J. Xia, C. Yang, H. Feng, Z. Jiang, X. Li, T. Gu and K. Yang, Microbiologically Influenced Corrosion of 2707 Hyper-Duplex Stainless Steel by Marine *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm, *Sci. Rep.*, 2006, **6**, 20190. doi: [10.1038/srep20190](https://doi.org/10.1038/srep20190).
97. Confocal Raman Microscopy, Eds.: T. Dieing, O. Hollricher and J. Toporski, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010. ISBN 978-3-642-12521-8.
98. C. Sandt, T. Smith-Palmer, J. Pink, L. Brennan and D. Pink, Confocal Raman microspectroscopy as a tool for studying the chemical heterogeneities of biofilms *in situ*, *J. Appl. Microbiol.*, 2007, **103**, 1808–1820. doi: [10.1111/j.1365-2672.2007.03413.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03413.x)
99. B.D. Beier, R.G. Quivey, Jr. and A.J. Berger, Identification of different bacterial species in biofilms using confocal Raman microscopy, *J. Biomed. Opt.*, 2010, **15**, 066001-1–066001-5. doi: [10.1117/1.3505010](https://doi.org/10.1117/1.3505010)
100. B.D. Beier, R.G. Quivey and A.J. Berger, Raman microspectroscopy for species identification and mapping within bacterial biofilms, *AMB Express*, 2012, **2**, 35. doi: [10.1186/2191-0855-2-35](https://doi.org/10.1186/2191-0855-2-35)
101. D.E. Nivens, J.Q. Chambers, T.R. Anderson and D.C. White, Long-term, on-line monitoring of microbial biofilms using a quartz crystal microbalance, *Anal. Chem.*, 1993, **65**, 65–69. doi: [10.1021/ac00049a013](https://doi.org/10.1021/ac00049a013)

-
102. J.J.T. Babauta, C.A. Beasley and H. Beyenal, Investigation of electron transfer by *Geobacter sulfurreducens* biofilms by using an electrochemical quartz crystal microbalance, *ChemElectroChem*, 2014, **1**, 2007–2016. doi: [10.1002/celec.201402127](https://doi.org/10.1002/celec.201402127)
 103. J. Wegener, A. Janshoff and C. Steinem, The quartz crystal microbalance as a novel means to study cell-substrate interactions *in situ*, *Cell Biochem. Biophys.*, 2001, **34**, 121–151. doi: [10.1385/CBB:34:1:121](https://doi.org/10.1385/CBB:34:1:121)
 104. A-C. Olofsson, M. Hermansson and H. Elwing, Use of a quartz crystal microbalance to investigate the antiadhesive potential of N-acetyl-l-cysteine, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005, **71**, 2705–2712. doi: [10.1128/AEM.71.5.2705-2712.2005](https://doi.org/10.1128/AEM.71.5.2705-2712.2005)
 105. V. Reipa, J. Almeida and K.D. Cole, Long-term monitoring of biofilm growth and disinfection using a quartz crystal microbalance and reflectance measurements, *J. Microbiol. Methods*, 2006, **66**, 449–459. doi: [10.1016/j.mimet.2006.01.016](https://doi.org/10.1016/j.mimet.2006.01.016)
 106. M.C. Dixon, Quartz crystal microbalance with dissipation monitoring: enabling real-time characterization of biological materials and their interactions, *J. Biomol. Tech.*, 2008, **19**, 151–158.
 107. A. Tunlid, D.E. Nivens, H. Jansson and D.C. White, Infrared monitoring of adhesion of *Catenaria anguillulae* zoospores to solid surfaces, *Exp. Mycology*, 1991, **15**, 206–214. doi: [10.1016/0147-5975\(91\)90022-6](https://doi.org/10.1016/0147-5975(91)90022-6)
 108. D. Helm, H. Labischinski, G. Schallehn and D. Naumann, Classification and identification of bacteria by Fourier-transform infrared spectroscopy, *J. Gen. Microbiol.*, 1991, **137**, 69–79. doi: [10.1099/00221287-137-1-69](https://doi.org/10.1099/00221287-137-1-69)
 109. P.D. Nichols, J.M. Henson, J.B. Guggert, D.E. Nivens and D.C. White, Fourier transform infrared spectroscopic methods for microbial ecology: analysis of bacteria, bacteria-polymer mixtures and biofilms, *J. Microbiol. Methods*, 1985, **4**, 79–94. doi: [10.1016/0167-7012\(85\)90023-5](https://doi.org/10.1016/0167-7012(85)90023-5)
 110. S. Hofmann, Depth profiling, In: *Practical Surface Analysis by Auger and X-ray Photoelectron Spectroscopy*, Eds.: D. Briggs and M.P. Seah, John Wiley & Sons Inc., New York, 1983, 141–179.
 111. D. Briggs and J.C. Riviere, Spectral interpretation, In: *Practical Surface Analysis by Auger and X-ray Photoelectron Spectroscopy*, Eds.: D. Briggs and M.P. Seah, John Wiley & Sons Inc., New York, 1983, 87–139.
 112. G. Chen, R.J. Palmer and D.C. White, Instrumental analysis of microbiologically influenced corrosion, *Biodegradation*, 1997, **8**, 189–200. doi: [10.1023/A:1008229419434](https://doi.org/10.1023/A:1008229419434)
 113. R.A. King and J.D.A. Miller, Corrosion by the Sulphate-reducing Bacteria, *Nature*, 1971, **233**, no. 5320, 491–492. doi: [10.1038/233491a0](https://doi.org/10.1038/233491a0)
 114. M. de Romero, Z. Duque, L. Rodríguez, O. de Rincón, O. Pérez and I. Araujo, A Study of Microbiologically Induced Corrosion by Sulfate-Reducing Bacteria on Carbon Steel Using Hydrogen Permeation, *CORROSION*, 2005, **61**, 68–75. doi: [10.5006/1.3278162](https://doi.org/10.5006/1.3278162)

-
115. J. Telegdi, A. Shaban and Gy. Vastag, Surface Science and Electrochemistry of Interfacial Chemistry, in: *Encyclopedia of Interfacial Chemistry: Biocorrosion-steel*, Ed.: P. Vadgama, 2017.
 116. B. Little, J. Lee and R. Ray, Microbiologically Influenced Corrosion: Global Phenomena, Local Mechanisms, Conference Proceeding, 20110224061 REPORT DATE: 17-02-2011. Naval Research Laboratory Stennis Space Center, MS, USA 39525.
 117. Y. Li, D. Xu, Ch. Chen, X. Li,X., R. Jia, D. Zhang, W. Sand, F. Wang and T. Gu, Anaerobic microbiologically influenced corrosion mechanisms interpreted using bioenergetics and bioelectrochemistry: A review. *J. Mater. Sci. Technol.*, 2018, **34**, 1713–1717. doi: [10.1016/j.jmst.2018.02.023](https://doi.org/10.1016/j.jmst.2018.02.023)

