

## **Определение скорости коррозии стальных тонкопленочных матриц под воздействием экзополимеров сульфатвосстанавливающих бактерий**

А. Ф. Андреева, А. М. Касумов, В. В. Гавриленко,  
В. М. Караваева, Л. М. Пуриш\*, Л. Г. Асауленко\*,  
Д. Р. Абдулина\*, И. А. Козлова\*

\*Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины, Киев

*Разработан новый экспресс-метод определения скорости коррозии тонких пленок стали ВСтЗсп под воздействием сульфатвосстанавливающих бактерий (СВБ) и синтезируемых ими экзополимеров. С использованием метода подтверждено, что коррозионная активность СВБ *Desulfovidrio sp.* Киев-10 выше, чем у *Desulfovidrio desulfuricans* Киев-45. Оценен вклад, вносимый в коррозию стали указанными бактериями, и показано, что он зависит от их концентрации в растворе. Наименьшая скорость коррозии соответствует наибольшей концентрации экзополимеров, а наибольшая — достигается уменьшением концентрации экзополимеров. Установлено, что экзополимеры, синтезируемые бактериями, обладают коррозионной агрессивностью.*

### **Введение**

Процесс коррозии, вызванной влиянием микроорганизмов, начинается с их адгезии на поверхности металла, что приводит к образованию биопленки [1]. На первой стадии происходит прикрепление микроорганизмов из окружающей среды к поверхности металла за счет наличия электростатических сил и условий для адгезии, таких как свободная энергия металлической поверхности, шероховатость и гидрофобность, наличие границ зерен металла [2]. Такая адгезия в дальнейшем становится необратимой благодаря синтезу бактериями экзополимеров (ЭПМ). В состав экзополимеров входят белки, нуклеиновые кислоты, липиды, экзополисахариды, содержащие разные функциональные группы, которые могут связывать металлы и, кроме этого, взаимодействуя между собой, образовывать новые структуры.

Как микроорганизмы, так и их экзополимеры могут приводить к коррозии на внутренней границе биопленки со сталью. В этом отношении наибольший интерес представляют сульфатвосстанавливающие бактерии (СВБ), как наиболее агрессивные. Производимые СВБ сульфиды обуславливают катодную деполаризацию водорода и нарушают инертность стали путем усиления анодного взаимодействия [3]. В то же время и экзополимеры, выделяемые СВБ, могут создавать комплексы с ионами металла и тем самым влиять на коррозию стали вследствие их кислотной природы [2]. Разделить вклад в процессы адгезии и коррозии, вносимый бактериями и синтезируемыми ими экзополимерами, сложно, поэтому этот вопрос в настоящее время является предметом дискуссий.

Предварительные исследования [4] по определению скорости и механизма коррозии тонких пленок стали ВСтЗсп, вызываемой данными

© А. Ф. Андреева, А. М. Касумов, В. В. Гавриленко, В. М. Караваева,  
Л. М. Пуриш, Л. Г. Асауленко, Д. Р. Абдулина, И. А. Козлова, 2009

бактериями, подтвердили возможность использования тонкопленочных матриц в качестве модели поверхности металла при экспресс-анализе коррозионных процессов, а также то, что скорость коррозии является универсальным критерием, который позволяет сравнить вклады, вносимые различными штаммами бактерий в коррозионный процесс.

Цель настоящей работы — определение вклада, вносимого в коррозию стали сульфатовосстанавливающими бактериями и их экзополимерами.

### Объект и метод исследования

Объектами исследования были коррозионно-агрессивные штаммы сульфатовосстанавливающих бактерий: *Desulfovibrio sp.* Киев-10 и *Desulfovibrio desulfuricans* Киев-45. Ранее показано, что штамм *Desulfovibrio sp.* Киев-10 более коррозионно-активный, чем *Desulfovibrio desulfuricans* Киев-45 [5]. Бактерии культивировались на жидкой питательной среде Постгейта “Б” при температуре 28 °С в колбах ( $V = 500$  мл), герметически закрытых резиновыми пробками, в течение 14 суток. Исследования проводили как с культурами СВБ, так и с синтезированными ими экзополимерами.

Для выделения ЭПМ культуральную жидкость центрифугировали при 15 000g 40 мин. Затем надосадочную жидкость сливали и диализовали в дистиллированной воде на протяжении трех суток при ежесуточной смене воды объемом 10 л. Полученные диализаты выпаривали на роторном испарителе для концентрации раствора ЭПМ, затем высушивали на лиофильной сушке.

Растворы каждого из экзополимеров взяты для трех уровней разведения: 1 : 10, 1 : 100 и 1 : 1000, что соответствует концентрациям экзополимеров  $C = 9,09 \cdot 10^{-5}$ ,  $9,90 \cdot 10^{-6}$  и  $9,99 \cdot 10^{-7}$  г/см<sup>3</sup>.

Проводили сравнение скоростей коррозии, вызываемой на тонких пленках стали ВСтЗсп культурами СВБ и синтезируемыми ими экзополимерами. Разработан специальный экспресс-метод определения скорости коррозии тонких пленок стали ВСтЗсп с использованием малых (0,05 мл) объемов раствора. В данном методе исследуемый образец представляет собой пленочную матрицу в форме буквы “Н”, нанесенную на стеклянную подложку. Средняя часть матрицы является пленкой стали длиной 10 мм, шириной 1 мм и толщиной 0,2 мкм. Боковые части матрицы представляют собой пленочные медные электроды, к которым припаиваются отводящие провода. Второй конец проводов подсоединен к чувствительному измерителю электросопротивления. Для осуществления коррозии на пленку стали наносится микропипеткой точно измеренный объем (0,05 мл) исследуемого раствора. Уменьшение толщины пленки стали, происходящее в процессе коррозии под действием раствора, приводит к увеличению электросопротивления пленки, что фиксируется измерителем. Измеряя электросопротивление пленки стали через равные промежутки времени, можно определить скорость  $v$  коррозии стали по формуле

$$v = \frac{\Delta m}{S \Delta t} = \frac{d \rho l_p}{2k(R - \rho \frac{l - l_p}{hk})^2} \cdot \frac{\Delta R}{\Delta t},$$

где  $\Delta m$  — масса прокорродировавшей части пленки за время  $\Delta t$  на площади  $S$ ;  $d$ ,  $\rho$  — плотность и удельное сопротивление пленки;  $R$  и

$\Delta R$  — начальное сопротивление и его изменение за время  $\Delta t$ ;  $l$ ,  $k$ ,  $h$  — длина, ширина и начальная толщина пленки стали;  $l_p$  — длина пленки, покрытой раствором.

Пленку меди наносили термическим испарением навески рафинированной меди, пленки стали — магнетронным распылением мишени. Мишенью служила малоуглеродистая сталь ВСт3сп, широко используемая для трубопроводов. Условия распыления (скорость роста — 10—20 нм/мин, давление —  $1 \cdot 10^{-3}$ — $5 \cdot 10^{-3}$  Па) обеспечивали присутствие в составе пленок стали небольшого количества оксида железа (до 1%), как это наблюдается в реальных условиях на поверхности стальных изделий.

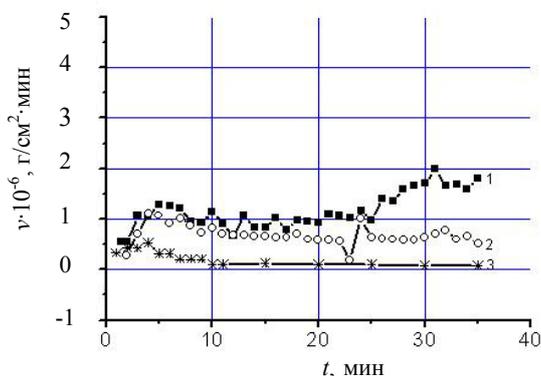
### Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлена зависимость скорости коррозии в присутствии СВБ *Desulfovibrio sp.* Киев-10 и *Desulfovibrio desulfuricans* Киев-45, а также питательной среды Постгейта “Б” от времени воздействия на пленку стали. Установлено, что скорость коррозии, вызванной СВБ *Desulfovibrio sp.* Киев-10 и *Desulfovibrio desulfuricans* Киев-45, имеет величину порядка  $10^{-6}$  г/см<sup>2</sup>·мин. Такая же скорость получена и в наших предварительных исследованиях [4] коррозии пленок стали под действием данных СВБ, но измеренных другими методами, а также в работе [6] на объемных образцах трубной стали, находящихся в природных условиях. Это совпадение подтверждает достоверность результатов, полученных данным методом, и его пригодность для выполнения поставленной задачи.

На рис. 1 также видно, что скорость коррозии, вызываемая СВБ *Desulfovibrio sp.* Киев-10, больше, чем вызываемая *Desulfovibrio desulfuricans* Киев-45, что также совпадает с выводами, сделанными в предыдущих работах [4]. Скорость коррозии стали в питательной среде Постгейта “Б” (рис. 1) намного меньше, чем в присутствии бактерий. Это свидетельствует о том, что коррозия вызвана бактериями.

На рис. 2 приведена концентрационная зависимость скорости коррозии, вызванной экзополимерами СВБ *Desulfovibrio sp.* Киев-10 и *Desulfovibrio desulfuricans* Киев-45 на пленках стали. При низких уровнях разведения (1 : 10) скорость коррозии у данных экзополимеров составляет менее  $10^{-7}$  г/см<sup>2</sup>·мин. При более сильном разбавлении (1 : 100) скорость коррозии резко возрастает до  $3 \cdot 10^{-6}$  г/см<sup>2</sup>·мин у экзополимеров СВБ *Desulfovibrio sp.* Киев-10 и до  $1 \cdot 10^{-6}$  г/см<sup>2</sup>·мин у экзополимеров СВБ *Desulfovibrio desulfuricans* Киев-45. При дальнейшем разбавлении (1 : 1000) скорость коррозии снова снижается.

Рис. 1. Зависимость скорости  $v$  биокоррозии, стимулированной культурами *Desulfovibrio sp.* Киев-10 (1) и *Desulfovibrio desulfuricans* Киев-45 (2) и средой Постгейта “Б” (3), от времени  $t$  воздействия растворов на пленку стали.



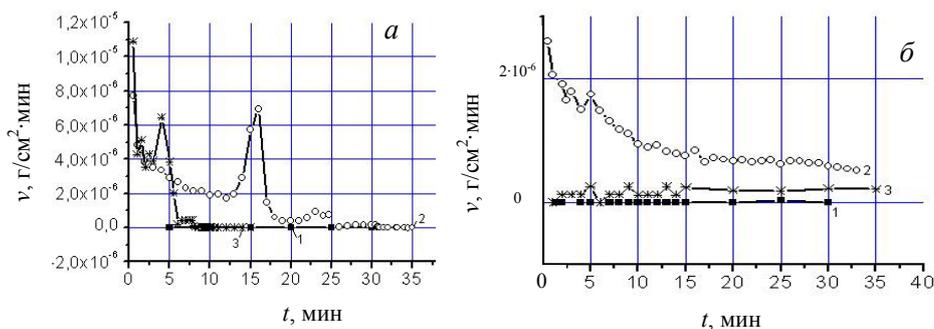


Рис. 2. Зависимость скорости  $v$  коррозии, вызванной растворами экзополимеров *Desulfovibrio sp.* Киев-10 (а) и *Desulfovibrio desulfuricans* Киев-45 (б) от времени  $t$  воздействия на пленку стали при отношениях разведения раствора в воде 1 : 10 (1), 1 : 100 (2), 1 : 1000 (3).

Концентрационная зависимость скорости коррозии на тонких пленках стали ВСтЗсп под воздействием экзополимеров, возможно, обусловлена их полимерной структурой. Можно предположить, что при слабом разведении (1 : 10) экзополимеры, оседая в растворе на поверхность металла, создают сплошную защитную пленку, препятствующую взаимодействию ионов Fe с окружающей средой. Реакционноспособные группы самих экзополимеров, такие как карбоксильные и аминогруппы [2], участвуют либо в межмолекулярных взаимодействиях в массе биопленки, либо в взаимодействии с поверхностью металла. Возможно, продукты коррозии не могут выйти из-под экзополимерной пленки и поэтому сами становятся частью защитного покрытия. При более сильном разбавлении (1 : 100) молекул экзополимеров становится недостаточно для создания защитной пленки. Вероятно, может происходить взаимодействие ионов Fe с функциональными группами экзополимеров, поэтому скорость коррозии стали увеличивается. При очень сильном разбавлении (1 : 1000) защитная пленка, возможно, не образуется и скорость коррозии снова уменьшается.

Из сравнения рис. 1 и 2 следует, что скорости коррозии, обусловленные СВБ и растворами экзополимеров этих бактерий, имеют один порядок величин. Такая схожесть скоростей позволяет предположить, что экзополимеры также являются коррозионно-агрессивными по отношению к тонким пленкам стали ВСтЗсп. Максимальная скорость коррозии, наблюдаемая при разведении 1 : 100 и вызываемая экзополимерами *Desulfovibrio sp.* Киев-10, в 2—3 раза выше, чем вызываемая экзополи-

#### Условия совпадения скоростей коррозии, вызываемой штаммами СВБ и их экзополимерами

Экзополимер	$t$ , мин	$v$ , г/см <sup>2</sup> ·мин	$C_{гр}$ , г/см <sup>3</sup>	Соотношение разведения экзополимеров
<i>Desulfovibrio sp.</i> Киев-10	25	$1,2 \cdot 10^{-6}$	$6 \cdot 10^{-6}$	1 : 100
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i> Киев-45	10	$0,9 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	1 : 100

мерами *Desulfovibrio desulfuricans* Киев-45, так же, как это имело место и при коррозии, вызванной самими культурами СВБ.

Таким образом, как СВБ *Desulfovibrio sp.* Киев-10, так и их экзополимеры вызывают коррозию стали с более высокой скоростью, чем аналогичные компоненты СВБ *Desulfovibrio desulfuricans* Киев-45.

При сравнении рис. 1 и 2 следует отметить, что при некоторых условиях наблюдается совпадение величин скоростей коррозии, вызванной как культурами СВБ, так и их экзополимерами. Эти условия приведены в таблице. При данных условиях коррозия тонких пленок стали ВСтЗсп обусловлена действием экзополимеров сульфатовосстанавливающих бактерий. Концентрация экзополимеров, при которой происходит данное совпадение, является граничной.

### Выводы

Разработан новый экспресс-метод определения скорости коррозии тонких пленок стали ВСтЗсп под воздействием сульфатовосстанавливающих бактерий и синтезируемых ими экзополимеров.

Результаты, полученные с использованием данного метода, подтвердили, что коррозионная активность СВБ *Desulfovibrio sp.* Киев-10 выше, чем у *Desulfovibrio desulfuricans* Киев-45.

Показано, что экзополимеры, синтезируемые бактериями, обладают коррозионной агрессивностью.

Вклад, вносимый экзополимерами СВБ *Desulfovibrio sp.* Киев-10 и *Desulfovibrio desulfuricans* Киев-45 в коррозию стали, зависит от их концентрации в растворе.

1. Perez E. J., Sierra R. C., Gonzales J., Vives F. R. Influence of *Desulfovibrio sp.* biofilm on SAE1018 carbon steel corrosion in synthetic marine medium // Corrosion Science. — 2007. — **49**. — P. 3580—3597.
2. Fang H. H. P., Xu L. C., Chan K. Y. Effects of toxic metals and chemicals on biofilm and biocorrosion // Water Research. — 2002. — **36**. — P. 4709—4716.
3. Mehanna M., Basseguy R., Delia M.-L., Bergel A. Role of direct microbial electron transfer in corrosion of steels // Electrochem. Commun. — 2009. — **11**. — P. 568—571.
4. Андреева А. Ф., Касумов А. М., Пуріш Л. М., Абдуліна Д. Р. Визначення швидкості корозії металевих тонкоплівкових матриць під впливом сульфатвідновлювальних бактерій // Современные проблемы физического материаловедения. — К.: Ин-т пробл. материаловедения НАН Украины. — 2008. — Вып. 17. — С. 155—162.
5. Асауленко Л. Г., Пуріш Л. М., Козлова І. П. Етапи формування біоплівки сульфатвідновлювальними бактеріями // Мікробіологічний журн. — 2004. — **66**, № 3. — С. 72—79.
6. *Металлы и металлоконструкции*. — НПО “Балтсинтез”. — 2006. — 5 с. — <http://biocides.ru/page783242>