

## Визначення швидкості корозії металевих тонкоплівкових матриць під впливом сульфатвідновлювальних бактерій

А. Ф. Андреева, А. М. Касумов, Л. М. Пуріш\*, Д. Р. Абдуліна\*

\* Інститут мікробіології та вірусології НАН України

*Визначена швидкість біокорозії за дії сульфатвідновлювальних бактерій (СВБ) Kiev-10 та Kiev-45, а також розчину Постгейт двома незалежними способами: по вимірюванню електроопору та оптичного коефіцієнта відбивання плівкових матриць маловуглецевої сталі ВСтЗсп. Показано, що швидкість корозії має величину  $10^7$  г·см<sup>2</sup>/хв. В стаціонарних умовах швидкість корозії у штамі Kiev-10 майже у 2,5 рази вище, ніж у штамі Kiev-45. Встановлений механізм взаємодії СВБ як з Fe, так і з оксидом заліза Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Взаємодія СВБ з тонкоплівковою сталевною матрицею призводить до змін у складі та структурі цих плівок.*

### Вступ

Сульфатвідновлювальні бактерії (СВБ) є найбільш активним агентом біокорозії і можуть брати безпосередню участь в електрохімічному процесі, що протікає на поверхні сталі, в біоплівці. Основним показником корозії, який дозволяє оцінити роль різних чинників, що супроводжують даний процес, є швидкість корозії, яку визначають різними методами: гравіметричним [1, 2], фотокалориметричним [3], фіксацією змін електричних властивостей [4] та частоти коливання кварцового вібратора [5] тощо.

Серед методів вимірювання швидкості біокорозії перевагу надають методу, що заснований на вимірюванні властивостей тонких плівок, які моделюють поверхню металевих виробів [6]. Напиленням плівок на поліровані підкладки вдається створити практично бездефектні поверхні металу, що включає вплив сторонніх факторів на перебіг корозії. Як відомо, такими факторами є неоднорідність хімічного складу [7], сульфідні включення [8], забруднення нафтопродуктами [9]. Штучне же введення у склад плівки цих елементів дає змогу послідовно вивчити їх вплив на корозію поверхні металу.

Розробка нових експрес-методів визначення корозійної активності бактерій та швидкості корозії металу є актуальною для створення методів протикорозійного захисту. Особливий інтерес представляють тонкі плівки металу для вивчення початкових стадій біокорозії, коли йде формування біоплівки на верхніх шарах металу.

Мета роботи — визначення швидкості корозії тонких плівок маловуглецевої сталі, виготовлених у зручній для експерименту конфігурації — у вигляді металевих тонкоплівкових матриць, за дії різних за корозійною агресивністю штамів сульфатвідновлювальних бактерій.

### Матеріали та методи досліджень

Об'єктами дослідження вибрано тонкі плівки сталі марки ВСтЗсп та сульфатвідновлювальні бактерії, що відрізнялися за агресивністю по відно-

© А. Ф. Андреева, А. М. Касумов, Л. М. Пуріш, Д. Р. Абдуліна, 2008

шенню до сталі. Культури бактерій виділені з різних техногенних ніш. Штам Kiev-10 (*Desulfovibrio sp.*) — з продуктів корозії арматури залізобетону Дніпрогесу, штам Kiev-45 (*Desulfovibrio desulfuricans*) — з продуктів корозії магістрального газопроводу в Поволжі. Попередніми дослідженнями визначено, що штам Kiev-10 більш корозійно-активний, ніж штам Kiev-45 [10].

Бактерії вирощували при 28 °С у рідкому поживному середовищі Постгейт “В” такого складу (г/л):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 0,5;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  — 1,0;  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  — 1,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  — 2,0; лактат кальцію — 3,5. Безпосередньо перед посівом вносили 5%-ний розчин дріжджового екстракту, 5%-ний розчин  $\text{FeSO}_4$  та розчин мікроелементів. Для підтримання відновлювальних властивостей середовища використовували 1%-ний розчин  $\text{Na}_2\text{S}$ .

Плівки сталі одержували електронно-променевим випаровуванням та магнетронним розпиленням на мішені. Мішенню слугувала мало-вуглецева сталь марки ВСтЗсп, яка зазвичай використовується для виготовлення трубопроводів. Постійність хімічного складу мішені на підкладинці забезпечувалась безперервністю потоку компонентів сталі, що випаровувались [11]. Швидкість росту плівок — 10—20 нм/хв; тиску —  $(1—5) \cdot 10^3$  Па — для забезпечення в складі плівок вмісту невеликої кількості оксиду заліза (до 1%), як це спостерігається в реальних умовах на поверхні металевих виробів. Як підкладинки використовували поліроване скло різної конфігурації.

Швидкість корозії визначали за зміною електричного опору та оптичного відбивання металевих матриць. Вимірювання швидкості біокорозії за зміною електроопору плівкових матриць сталі проводили наступним чином. На предметне скло наносили плівку сталі у формі літери “П”. До кінців цієї плівки припаювали дротові електроди, які приєднували до чутливого омметра. Скельця з плівкою поміщали у скляний бюкс, куди потім заливали культуральну рідину сульфат-відновлювальних бактерій, щільно закривали гумовою пробкою, інкубували при температурі 26 °С та вимірювали опір плівки.

За зміною опору плівки розраховували втрату маси зразка  $m$  з одиниці площі поверхні  $S$  за одиницю часу  $t$ , тобто швидкість корозії:

$$\frac{\Delta m}{S \cdot \Delta t} = \frac{R_0 \cdot h_0 \cdot \rho}{t' - t''} \left[ \frac{1}{(R' - R_H)} - \frac{1}{(R'' - R_H)} \right] \cdot \sum_i \left( \frac{I_p}{k} \right)_i / \sum_i \left( \frac{I_0}{k} \right)_i, \quad (1)$$

$i = 3,$

де  $t'$  та  $t''$  — час зміни опору плівки;  $R_0$  — вихідний опір усієї плівки;  $R_H$  — опір плівки, зануреної в розчин;  $R'$ ,  $R''$  — опір всієї плівки у моменти заміру  $t'$  та  $t''$  відповідно;  $h_0$  — вихідна товщина плівки;  $\rho$  — щільність плівки;  $(I_p)_i$ ,  $(I_0)_i$  — відповідно довжина трьох ділянок плівки, які складають літеру “П”, до та після занурення у розчин;  $k$  — ширина тих самих ділянок плівки.

При визначенні швидкості корозії за зміною відбивання плівку сталі наносили на внутрішню поверхню полірованої кювети, а зміну відбивання при корозії плівки контролювали із зовнішньої сторони кювети через її прозору стінку.

Спектрофотометр забезпечував швидкий запис спектра коефіцієнта

відбивання в області хвиль довжиною 333—770 нм за допомогою приставки з дзеркалами, які розміщені у відділенні кювети. На приставку відбивання встановлювали поліровану скляну кювету, на внутрішню сторону дна якої нанесена плівка сталі. Для забезпечення умов анаеробності кювету щільно закривали притертою кришкою. В кювету заливали культуральну рідину бактерій, за дії якої плівка сталі на дні починала кородувати, її товщина зменшувалася і знижувалася інтенсивність відбитого світла. Інтенсивність відбитого світла фіксували спектрофотометром за зміною спектра коефіцієнта відбивання плівок сталі. Для того щоб зміни спектра відбивання сталі були помітні одразу після початку корозії, товщина плівки обиралась малою (50—100 нм), такою, щоб плівка була напівпрозорою.

Швидкість біокорозії  $\Delta m / S \cdot \Delta t$  розраховували за формулою

$$\Delta m / S \cdot \Delta t = \rho / \alpha \cdot (1 - K') \cdot (K' - K'') / (t' - t''), \quad (2)$$

де  $K'$ ,  $K''$  — коефіцієнт відбивання у моменти часу  $t'$  та  $t''$  відповідно;  $\alpha = 177\,491$  см — коефіцієнт поглинання плівки сталі, який визначений за спектром пропускання.

Швидкість біокорозії визначали при довжині хвилі  $\lambda = 625$  нм, для якої різниця записаних спектрів відбивання була найбільш суттєвою.

Структурно-фазовий аналіз плівок сталі до і після дії сульфатвідновлювальних бактерій проводили методом електронграфії. Для проведення такого аналізу плівки сталі наносили на підкладинки монокристалічного NaCl. При розчиненні NaCl у дистильованій воді плівки сталі випливали та утримувались на поверхні води за рахунок сил поверхневого натягу, виловлювались на латунну сітку з дрібними комітками діаметром 20 мкм. Висушену на сіточці плівку сталі розміщували в електронграфі, де знімали електронграми. При розшифровці здійснювали структурно-фазовий аналіз плівки до початку корозії. Потім плівку сталі на сіточці поміщали на поверхню культуральної рідини бактерій у щільно закритому бюксі, де утримували за рахунок сил поверхневого натягу. При контакті плівки сталі з сульфатвідновлювальними бактеріями відбувалася корозія. Після експозиції (14 діб) сіточку з плівкою виймали з бюкса, висушували і проводили зйомку електронграми зкородованої матриці сталі з біоплівкою, яка на ній утворилась.

Електронно-мікроскопічне дослідження плівки сталі до та після корозії проводили паралельно на зразках, що підготовлені для електронграфічних досліджень.

### Результати та їх обговорення

Результати визначення швидкості корозії сталі за зміною електроопору представлено на рис. 1, а. Встановлено, що швидкість корозії сталі під впливом штаму Kiev-10 була вищою, ніж за дії штаму Kiev-45. Поживне середовище Постгейт "В" (контроль) проявляло незначну корозійну агресивність —  $1,3 \cdot 10^{-7}$  г/см<sup>2</sup>·хв, на порядок нижчу, ніж за дії бактерій. Після 30—40 хв експозиції швидкість корозії плівок за дії штаму Kiev-10 складала  $50 \cdot 10^{-7}$  г/см<sup>2</sup>·хв, за дії штаму Kiev-45 —  $27 \cdot 10^{-7}$  г/см<sup>2</sup>·хв.

Швидкість корозії сталі за зміною оптичного коефіцієнта відбивання плівок сталі визначали протягом 20 хв (рис. 1, б). Зниження швидкості корозії, що спостерігалось у процесі взаємодії розчинів з плівкою сталі,

було викликано зменшенням товщини плівки сталі. Найбільша швидкість

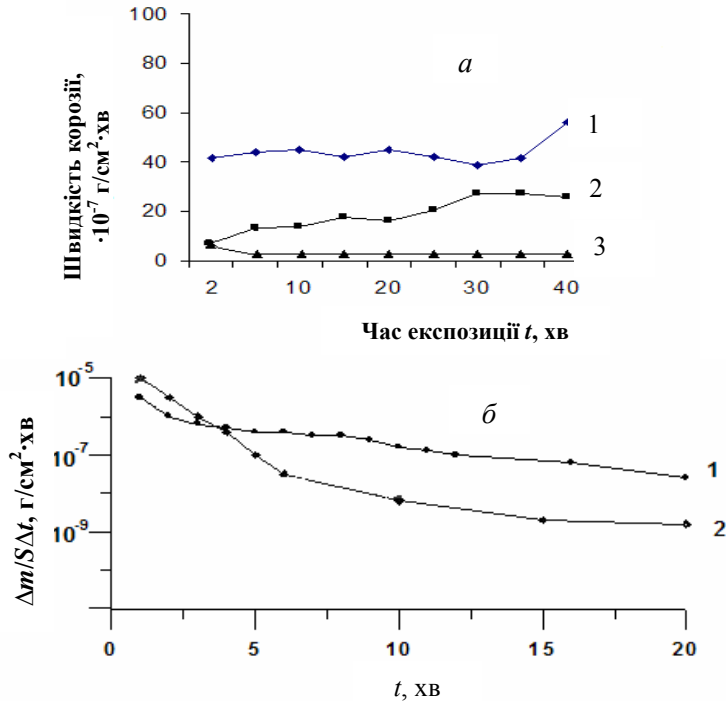


Рис. 1. Швидкість корозії плівки сталі, що визначена за зміною електроопору (а) та оптичного коефіцієнта відбивання (б): 1 — штамп Kiev-10; 2 — штамп Kiev-45; 3 — середовище Постгейт “В” (контроль).

корозії відмічена у початковій стадії експозиції. На цій стадії зміна швидкості корозії близька до експоненціальної. На стадії усталеного процесу швидкість корозії сталі під впливом штаму Kiev-10 була вищою, ніж за дії штаму Kiev-45.

Отже, швидкість біокорозії, що одержана на плівках сталі двома незалежними методами: за зміною електроопору та коефіцієнта відбивання, має однаковий порядок величини —  $10^{-7}$  г/см<sup>2</sup>·хв. Показано також, що в стаціонарних умовах проходження процесу біокорозії швидкість втрати маси поверхнею сталі за дії корозійно-агресивного штаму бактерій Kiev-10 в 2—2,5 рази вище, ніж за дії штаму Kiev-45.

Структурні зміни, що відбувалися у плівковій матриці під впливом СВБ, фіксували електроннографічним та електронно-променевим методами. На рис. 2 представлена штрих-діаграма ліній розсіювання, що одержана з електронограм плівок сталі до та після 30-хвилинної експозиції при кімнатній температурі у культуральних рідинах штампів Kiev-10 та Kiev-45, а також у середовищі Постгейт “В” (контроль).

Структурно-фазовий аналіз плівок сталі показує, що плівки сталі, які не піддавалися біокорозії, склалися з двох фаз: кубічного  $\alpha$ -Fe просторової групи  $Im\bar{3}m-O_h^9$  та кубічного магнетиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. За дії сульфатвідновлювальних бактерій та середовища Постгейт “В” на електронограмах спостерігається зменшення інтенсивності і навіть зникнення деяких ліній розсіювання, що вказує на зменшення вмісту певної речовини в плівці. Зникнення ліній відбувається тільки у фазі

$\text{Fe}_3\text{O}_4$ , причому найбільша кількість ліній оксиду зникає за дії середовища

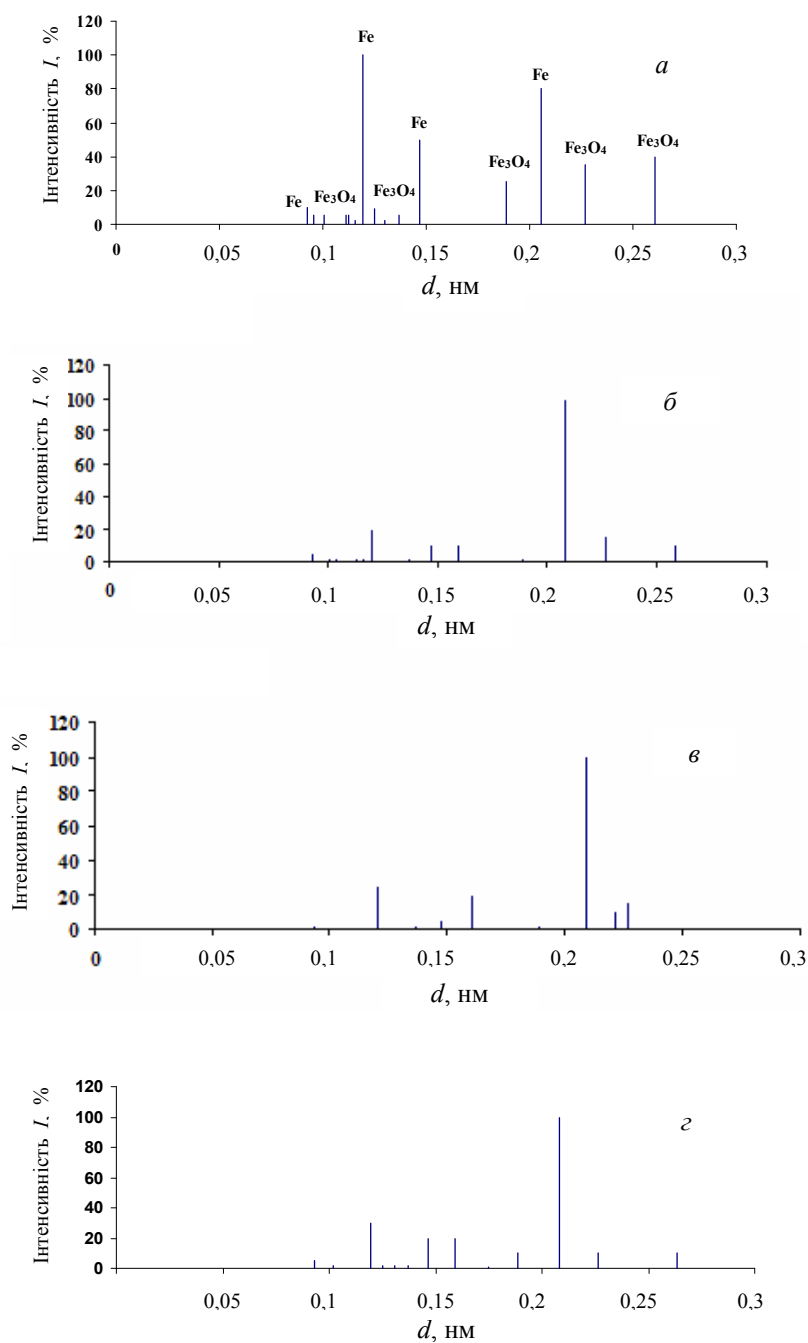


Рис. 2. Штрих-діаграма ліній електронно-променевого розсіявання плівок сталі до біокорозії (а) та після 30-хвилинної експозиції при кімнатній температурі в штабах Kiev-10 (б), Kiev-45 (в) та у середовищі Постгейта "В" (контроль) (г).

Постгейт "В" (лінії  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  з  $d = 0,1122; 0,1050; 0,09632$  нм) та бактерій штаму Kiev-45 (лінії  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  з  $d = 0,1328; 0,1050; 0,09623$  нм), а найменша

кількість — за дії бактерій штаму Kiev-10 (лінія  $d = 0,09632$  нм). Це вказує на різницю у хімічній взаємодії різних за агресивністю штамів сульфатвідновлювальних бактерій: більш корозійно-агресивний штам Kiev-10 інтенсивніше взаємодіє з фазою Fe, ніж з Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, а менш агресивний штам Kiev-45 взаємодіє як з фазою Fe, так і з Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>; середовище Постгейт “В” взаємодіє подібно штаму Kiev-45: одразу з обома фазами Fe і Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.

Крім зменшення інтенсивності ліній фаз, які складають плівку сталі, за дії сульфатвідновлювальних бактерій спостерігається зсув деяких ліній, тобто зміна міжплощинних відстаней кристалічної структури. Так, для найбільш інтенсивної лінії розсіювання Fe ( $d = 0,2027$  нм) за дії сульфатвідновлювальних бактерій проходить значний зсув і стала кубічної ґратки Fe розтягується під впливом штаму Kiev-10 на 0,0039 нм, штаму Kiev-45 — на 0,0048 нм і середовища Постгейт “В” — на 0,0036 нм. В той самий час для другої сильної лінії ( $d = 0,1170$  нм) зсув не спостерігається і стала ґратки не змінюється. Звідси випливає, що в процесі біокорозії не тільки зменшується маса фаз, що складають плівки, але й трансформується кристалічна структура цих фаз. Така зміна може проходити або при вилюговуванні якоїсь складової плівки, наприклад Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, та утворенні пустот, або за рахунок дії складових продуктів метаболізму (епітаксіальна дія), наприклад FeS та Fe(OH)<sub>3</sub>.

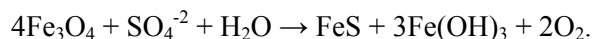
При біокорозії плівок сталі виникнення нових ліній, які відповідають продуктам метаболізму, не спостерігалось. Це свідчить про те, що ці продукти або розчиняються у воді (а це для FeS та Fe(OH)<sub>3</sub> неможливо), або знаходяться в аморфному стані.

Електронно-мікроскопічний метод на просвітлення не дозволив чітко виявити продукти метаболізму. У повністю зкородованих за 14 днів плівках сталі були помітні продукти метаболізму у вигляді згустків кулястої форми, що не мають прямокутних меж, які властиві кристалічному стану. Це підтверджує їх аморфний стан. Оскільки в аморфному стані зберігається ближній порядок кристалічної ґратки, аморфізовані продукти метаболізму СВБ можуть впливати на кристалічну ґратку плівки сталі і спричиняти зміни у її складі.

Ймовірно, що відмінності у швидкості корозії та хімічній взаємодії з поверхнею сталеві плівки, які виявлені при структурно-фазовому аналізі різних за корозійною агресивністю сульфатвідновлювальних бактерій, можна пояснити, виходячи з теорії анаеробної корозії. Як відмічено в роботі [12], корозія заліза за дії сульфатвідновлювальних бактерій спричинена головним чином відновленням сульфатів за реакцією



Згідно з даними нашого структурно-фазового аналізу, така реакція властива в основному бактеріям штаму Kiev-10, що взаємодіяли з фазою Fe і слабо реагували з Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. В той же час клітини штаму Kiev-45 інтенсивно взаємодіяли з Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, у цьому випадку реакція відновлення сульфатів повинна йти з виділенням газоподібного кисню:



Вибіркова дія сульфатвідновлювальних бактерій на фазовий склад плівок сталі, як видно, є причиною кристалографічних змін, що

спостерігаються в їх структурі. Більш активна взаємодія бактерій штаму Kiev-45 з  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  повинна приводити до більшого вилуговування заліза з кристалічної ґратки та до більш сильного її спотворення, ніж за дії штаму Kiev-10. Це і спостерігається: штаб Kiev-45 ( $\Delta a = 0,0048$  нм) значно перевищує таку зміну за впливу бактерій штаму Kiev-10 ( $\Delta a = 0,0039$  нм).

Епітаксіальний вплив продуктів метаболізму на кристалічну ґратку плівок менш ймовірний, ніж вплив вилуговування, оскільки у випадку проходження реакції з виділенням кисню цих продуктів стає менше, тому їх вплив повинен зменшуватись. Вплив вилуговування у даному випадку є більш характерний за дії поживного середовища Постгейт "В", складові якого викликали зміни у структурному складі плівок сталі. За дії на плівки сталі сульфатвідновлювальних бактерій в незначній кількості було виявлено лише  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ .

Відомо, що, розвиваючись у біоплівці на поверхні сталі, сульфатвідновлювальні бактерії синтезують екзополімерні сполуки, такі як екзополісахариди, білки, ліпіди та інші, що у водній системі формують на поверхні слизований шар, який є аморфним за своєю структурою. Саме ці бактеріальні екзополімери можуть діяти як матриця для приєднання кристалів акагеніту ( $\beta\text{-FeOOH}$ ), тобто окисненого заліза. Результатом контакту екзополімеру та окисненого заліза є ймовірно зв'язування іонів заліза карбоксильними групами на полімері та перешкоджання їх переходу у кристалічний стан. Вони залишаються у зв'язаному аморфізованому стані. Це підтверджується даними структурно-фазового аналізу: на поверхні плівок помічено аморфні скупчення некристалічної будови.

### Висновки

Встановлено початкові етапи взаємодії СВБ з тонкоплівковими сталевими матрицями. Показано, що швидкість корозії плівкових матриць складає  $10^{-7}$  г/см<sup>2</sup>·хв. У стаціонарних умовах швидкість корозії у штамі Kiev-10 майже у 2,5 рази вище, ніж у штамі Kiev-45.

Визначено, що штаб Kiev-10 взаємодіє з фазою Fe, зменшуючи її вміст у сталевій плівці, але мало впливає на фазу оксиду заліза. Бактерії штаму Kiev-45 взаємодіють як з Fe, так і з оксидом заліза  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , які входять до складу сталі. Аналогічна дія на плівку сталі помічена й для середовища Постгейт "В". Взаємодія СВБ з тонкоплівковою сталевією матрицею призводить до змін у складі та структурі цих плівок.

Отже, запропоновані нові методи можуть бути використані для визначення швидкості корозії сталі.

1. Азизов Р. Э. Кинетические закономерности формирования коррозионно-активных биопленок и подходы к их элиминированию: Автореф. дис. ... канд хим. наук. — М.: МГУ, 2007. — 24 с.
2. Cetin D., Bilgis S., Donmer G. Biocorrosion of low alloy steel by *Desulfotomaculum* sp. and effect of biocides on corrosion control // ISIJ Internat. — 2007. — 47, No. 7. — P. 1023—1028.
3. Калугина С. А., Кобаненко И. В., Малыгин А. В., Малыгин В. В. Роль температуры и термогальванических эффектов в коррозии железа и кадмия в кислом сульфатном электролите // Вестник ВГУ. Серия химия, биология. — 2001. — № 2. — С. 45—48.

4. *Maranda E., Bethencourt M., Botana F. I. et al.* Ollivier biocorrosion of carbon steel alloy by an hydrogenotrophic sulfate-reducing bacterium. *Desulfovibrio capillatus* isolated from a Mexican oil field separator // *Corrosion Science*. — 2006. — **48**, issue 9. — P. 2417—2431.
5. *Ben Zagha S., Crusset D., Mabilie I. et al.* Corrosion of iron: a study for radioactive waste canisters // *J. of Nuclear Materials*. — 2007. — **362**. — P. 485—492.
6. *Козлова И. А., Контева Ж. П., Занина В. В. и др.* Новый подход до вивчення мікробно індукованої корозії // *Фіз.-хім. механіка матеріалів*. — 2000. — **2**, № 1. — С. 626—629.
7. *Зайцева О. В., Кленова Н. А., Бородин О. И. и др.* Разработка комплексной методики исследования биопленки, включающей биохимические и микробиологические методы исследования и высокоразрешающую растровую электронную микроскопию // *Вестник Самарского ГУ, естественно-научная серия*. — 2006. — № 7 (47). — С. 60—65.
8. *Beech I. B., Sunner I.* Biocorrosion: towards understanding interaction between biofilms and metals // *Current Opinion in Biotechnology*. — 2004. — P. 181—186.
9. *Cetin D., Bilgis S., Donner G.* Determination of biocorrosion of low alloy steel by sulfate reducing *desulfotomaculum* sp. isolated from crude oil field // *Materials and Corrosion*. — 2007. — **58**, issue 11. — P. 841—847.
10. *Асауленко Л. Г., Пуріш Л. М., Козлова І. П.* Етапи формування біоплівки сульфатвідновлювальними бактеріями // *Мікробіол. журн.* — 2004. — **66**, № 3. — С. 72—79.
11. *Майсел Л., Гленг Р.* Технология тонких пленок. — М.: Сов. радио, 1977. — 662 с.
12. *Металлы и металлоконструкции* // НПО “Балтсинтез”. — 2006. — **5**. — [http:// biocides.ru/page 783242](http://biocides.ru/page 783242).