

[Note]

www.whxb.pku.edu.cn

## 假单胞菌对 A3 钢在枝孢霉菌溶液中腐蚀行为的影响

李松梅\* 王彦卿 刘建华 梁馨

(北京航空航天大学材料科学与工程学院, 北京 100083)

**摘要:** 采用动电位扫描法、电化学交流阻抗法和表面分析方法研究了假单胞菌的加入对 A3 钢在枝孢霉菌溶液中腐蚀行为的影响. 结果表明, 假单胞菌的存在影响了 A3 钢在枝孢霉菌体系中阳极的反应过程, 假单胞菌与枝孢霉菌混合体系(简称假-枝混合菌体系)中 A3 钢的自腐蚀电流小于枝孢霉菌单菌体系, A3 钢的腐蚀速率减小; 随着浸泡时间的延长, 从第 7 天开始, A3 钢电极在假-枝混合菌体系中的阻抗值较之同样浸泡天数的枝孢霉菌单菌体系的阻抗值大, 假单胞菌的存在抑制了枝孢霉菌对 A3 钢的腐蚀. SEM 结果表明, A3 钢在枝孢霉菌和假-枝混合菌体系中均发生了点蚀, 枝孢霉菌单菌体系中 A3 钢的点蚀坑大而深, 假-枝混合菌体系中的点蚀坑与枝孢霉菌体系相比小而浅.

**关键词:** 混合菌; 微生物腐蚀; 好气性细菌; 假单胞菌; 枝孢霉菌

**中图分类号:** O646; TG172

## Influence of *Pseudomonas* on the Corrosion Behaviors of Steel A3 in *Cladosporium* Solution

LI Song-Mei\* WANG Yan-Qing LIU Jian-Hua LIANG Xin

(School of Materials Science and Engineering, Beijing University of Aeronautics and Astronautics, Beijing 100083, P. R. China)

**Abstract:** The potentiodynamic scanning polarization, electrochemical impedance spectroscopy and surface analysis methods were employed to investigate the effect of *pseudomonas* on the corrosion behaviors of steel A3 in *cladosporium* solution. It was showed that the existence of *pseudomonas* affected the anodic process of steel A3 in *cladosporium* solution, free corrosion current ( $i_{corr}$ ) of steel A3 decreased when the two microorganisms coexisted in the culture. With exposure time increasing, from the 7th day, the impedance value of steel A3 in the mixed-colony system was greater than that in the *cladosporium* system, which indicated that *pseudomonas* had an inhibitory effect on the corrosion of steel A3. The results of SEM indicated that pitting corrosion occurred in both of the *cladosporium* and the *pseudomonas-cladosporium* mixed colony systems, but the pitting holes of steel A3 in the latter solution were smaller and shallower.

**Key Words:** Mixed colonies; Microbiologically influenced corrosion; Aerobe; *Pseudomonas*; *Cladosporium*

微生物腐蚀广泛存在于海港、湖泊、储油罐、输油管道等系统中, 油罐和输油管道的漏油, 不仅会造成巨大的经济损失, 危害环境, 而且还会引起火灾、爆炸威胁人身安全.

Liu 等<sup>[1-4]</sup>研究了典型厌氧菌硫酸盐还原菌(SRB)对多种金属腐蚀性能的影响. 近来, Tao 等<sup>[5]</sup>从过滤

器堵塞的储油罐底部检测到了两种好气性微生物——假单胞菌和枝孢霉菌, 研究发现枝孢霉菌对 A3 钢有较强的腐蚀作用. 假单胞菌和枝孢霉菌均属严格好氧菌, 在一个简单的有机化合物为唯一碳源、能源的无机培养基中就可以生长. 关于枝孢霉菌和假单胞菌对材料的腐蚀研究国内外已有报道<sup>[6-9]</sup>, 但

Received: May 22, 2007; Revised: September 3, 2007; Published on Web: September 24, 2007.

\*Corresponding author. Email: songmei\_li@buaa.edu.cn; Tel/Fax: +8610-82317103

均为单孢菌的微生物腐蚀. 本文将假单胞菌和枝孢霉菌进行混合接种, 探讨假单胞菌的加入对 A3 钢在枝孢霉菌溶液中腐蚀行为的影响.

## 1 实验部分

### 1.1 实验材料

实验所用材料为 A3 钢(成分如表 1 所示), 将其加工成圆柱形电极( $\phi 10$  mm)和带孔试片(20 mm $\times$ 30 mm $\times$ 2 mm)两种试样. 试片用水砂纸打磨到 1000#, 电极用水砂纸打磨到 1200#, 用 75% 酒精消毒, 经消毒后的试样放入无菌干燥箱中保存, 在实验前用紫外灯灭菌 30 min, 确保实验中无杂菌污染.

### 1.2 微生物的培养

实验所用的培养基为混合菌培养基. 将假单胞菌、枝孢霉菌进行液体培养至对数生长期, 然后按 1:1 的体积比接种到 250 mL 的培养基中, 单孢菌体系中接种的假单胞菌和枝孢霉菌的数量与混合菌体系中的相同, 接种后放入 30  $^{\circ}$ C 的恒温培养箱中连续培养, 培养过程中用平板计数法计算微生物数量. 实验所用的微生物腐蚀体系为不接种微生物的体系(即无菌体系)、枝孢霉菌体系、假单胞菌体系、假单胞菌和枝孢霉菌组成的混合菌腐蚀体系(简称假-枝混合菌体系). 实验中所有溶液与器具都用高温蒸汽消毒.

### 1.3 电化学实验

电化学测试使用的仪器为美国 PAR2273 电化学工作站. 采用带有鲁金毛细管的三电极体系, 工作电极为 A3 钢, 参比电极为饱和甘汞电极, 辅助电极为大面积(30 mm $\times$ 30 mm)铂电极. 测量工作电极在无菌体系、单菌体系和假-枝混合菌体系中浸泡 2、7、15 天的极化曲线和电化学交流阻抗谱(EIS). 极化曲线的测定采用动电位扫描方式, 电位扫描速率为

表 1 A3 钢的化学成分

Table 1 Chemical compositions of steel A3

Material	w(C)(%)	w(Si)(%)	w(Mn)(%)	w(S)(%)	w(P)(%)
steel A3	$\leq 0.30$	$\leq 0.01$	$\leq 0.42$	$\leq 0.029$	$\leq 0.019$

0.1660 mV $\cdot$ s $^{-1}$ . EIS 测试在自腐蚀电位下进行, 激励信号为 5 mV 的正弦波, 测试频率范围为 5 mHz–100 kHz.

### 1.4 表面分析

将上述已灭菌的带孔 A3 钢片浸在刚刚接种微生物的培养基中, 第 15 天时将其从腐蚀介质中取出, 去除腐蚀产物后用 JSM-5800 型扫描电子显微镜观察腐蚀形貌.

## 2 结果与讨论

### 2.1 微生物的生长

将培养至对数期的假单胞菌( $0.5 \times 10^7$  number of *pseudomonas*  $\cdot$  mL $^{-1}$ )和枝孢霉菌( $2.1 \times 10^7$  number of *cladosporium*  $\cdot$  mL $^{-1}$ )各 5 mL 接种进混合菌培养基, 置于恒温培养箱中培养. 2 天后发现培养基的表面都出现了一层粘稠状白膜, 说明假单胞菌和枝孢霉菌在混合菌培养基中大量生长. 图 1(a、b)分别为假单胞菌和枝孢霉菌的生长曲线. 可以看出, 假单胞菌在 5 天左右进入对数生长期, 7 天左右溶液中微生物的数量达到最大值; 枝孢霉菌在 6 天左右开始进入对数生长期, 9 天左右体系中的微生物数量达到最大值; 然后随着时间的延长溶液中两种微生物数量均逐渐减少, 15 天后, 体系中微生物数量几乎为零.

### 2.2 极化曲线

图 2 为 A3 钢在枝孢霉菌、假单胞菌和假-枝混合菌体系中的极化曲线. 可以看出, 浸泡 15 天后, A3 钢在无菌体系、枝孢霉菌、假单胞菌、假-枝混合

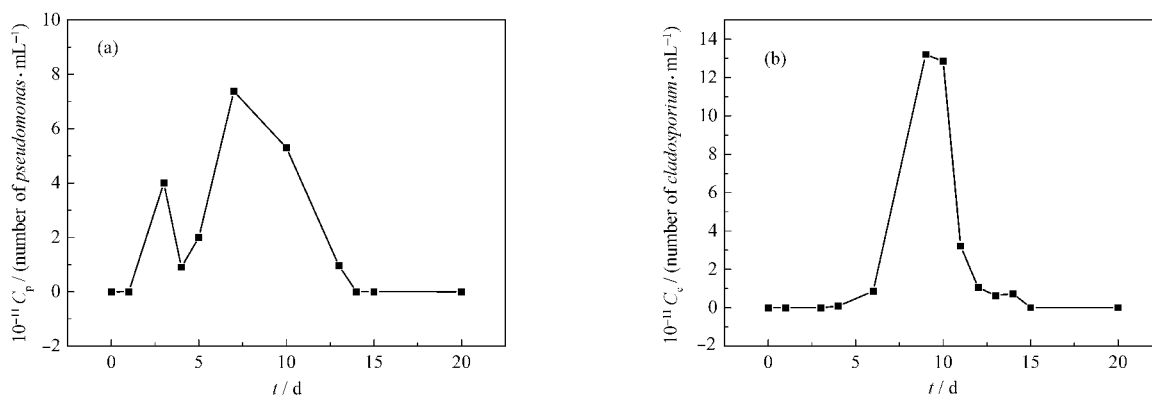


图 1 假单胞菌(a)和枝孢霉菌(b)在混合菌培养基中的生长曲线

Fig.1 Growth curves of *pseudomonas* (a) and *cladosporium* (b) in the mixed-colony medium

菌中的自腐蚀电位分别为 $-0.570$ 、 $-0.602$ 、 $-0.570$ 和 $-0.580$  V. 开路电位的不同,是由于不同暴露情况下金属表面形成的膜层不同而影响了双电层的电位,但腐蚀电位的这种变化与基体金属的腐蚀速率并无必然的联系. 通过以上数据可以看出,无菌和有菌体系中 A3 钢的自腐蚀电位相差不大,说明浸泡 15 天后微生物对基体金属的影响较小,这可能是 15 天后体系中的营养物质逐渐减少,不能供应细菌的新陈代谢,细菌活性下降,活菌数量减小,对表面堆积着厚厚的腐蚀产物的 A3 钢电极表面影响较小,这点可从生长曲线上 15 天时两种菌的数量几乎为零反映出来.

另外,有菌体系的阳极极化曲线和阴极极化曲线与无菌体系相比变化都比较大,且有菌体系的腐蚀电流密度明显大于无菌体系,说明微生物的活动改变了 A3 钢电极的反应历程,加快了 A3 钢的反应速率. 假-枝混合菌体系与枝孢霉菌单菌体系相比, A3 钢的阴极极化曲线与枝孢霉菌的基本一致,阳极极化曲线则有较大的不同,说明假单胞菌的存在,对 A3 钢电极的阳极特性影响较大. 从阳极极化曲线可以看出,在同一电位下,假-枝混合菌体系的电流密度与假单胞菌体系相差不大,但却明显小于枝孢霉菌体系的电流密度,说明假单胞菌的存在,使 A3 钢在枝孢霉菌菌液中阳极的反应速率减慢,可能是假单胞菌吸附在钢铁表面产生了一种大分子量的多聚糖<sup>[10,11]</sup>,形成致密的生物膜,阻滞了 A3 钢的腐蚀.

### 2.3 电化学阻抗谱分析

图 3 是 A3 钢在假单胞菌、枝孢霉菌和假-枝混合菌体系中浸泡不同时间的电化学阻抗谱. 采用软件 ZSIMPWIN 对图 3 中 3 个体系的阻抗谱进行拟合后,得到的等效电路和元件参数值分别如图 4 和表 2 所示. 从图 4 和表 2 中可以看出,三种条件下拟合产生的等效电路图、电化学反应电阻( $R$ )和双电层电容( $C_d$ )都存在明显的差异,表明不同菌种存在的条件下成膜过程和机制具有显著差别. 在相同的介质条件下,混合菌种生物膜层的形成及其组成将比单菌种培养基中的更为复杂,会受介质成分、代谢关系及代谢过程等多种因素的影响. 在混合菌种的协同作用下有可能形成均匀致密的保护膜层,从而降低基体金属的腐蚀速率,这一点可以从表 2 中的反应电阻的大小得到体现.

由表 2 中的数据可知,随着浸泡时间的延长, A3 钢在三个体系中的阻抗值都持续减小,表明 A3

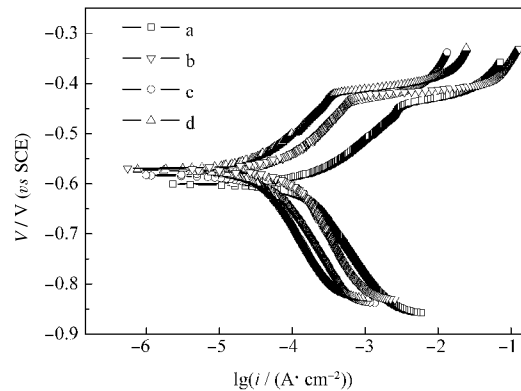


图 2 A3 钢电极在不同溶液中浸泡 15 天后的极化曲线  
Fig.2 Polarization curves of steel A3 exposed 15 days in different solutions

a) *cladosporium*; b) *pseudomonas* and *cladosporium*; c) *pseudomonas*; d) without bacteria

钢在三个体系中随着浸泡时间的延长,腐蚀越来越严重. 浸泡 2 天时, A3 钢在假-枝混合菌体系中的总阻抗( $R_1+R_2$ ,  $1746.6 \Omega \cdot \text{cm}^2$ )小于在枝孢霉菌体系中的总阻抗( $1776.9 \Omega \cdot \text{cm}^2$ ),但随着浸泡时间的延长,第 7 天和 15 天时假-枝混合菌体系中的总阻抗值均大于枝孢霉菌体系,这可能是由于:(1)在假单胞菌和枝孢霉菌共同作用下,从第 7 天开始在金属基体表面形成了完整致密的生物膜,而在枝孢霉菌的体系中,随着金属表面腐蚀产物的增多,生物膜变得疏松多孔,形成氧浓差电池,反而使金属腐蚀的速率加快;(2)假单胞菌生成的致密生物膜附着在试样表面,起到一定的机械阻挡作用<sup>[12]</sup>;(3)假单胞菌的加入抑制了枝孢霉菌的生长,枝孢霉菌的数量大量减少,使混合菌作用下的作用机制更接近于假单胞菌单独存在的状况. 混合菌种和两个单菌种阻抗值的不同,表现为两者腐蚀速率的相应变化,这可以从另一个侧面反映了混合菌种对成膜过程的影响.

由图 3(c)、(f) 可知, A3 钢电极在两个单菌体系中浸泡的 7 和 15 天后,相位图上均出现两个时间常数. 由混合菌体系的阻抗谱可知,在两种微生物的共同作用下,第 7 天时混合菌体系的相位图上有三个时间常数, A3 钢的表面不仅存在由枝孢霉菌的代谢产物和 A3 钢的腐蚀产物形成的阻抗值较小的疏松生物膜层,还存在另外一个致密的膜层,它可能是由假单胞菌生成的致密的铁-胞外聚合物层<sup>[13]</sup>,这从 A3 钢在假单胞菌体系中的阻抗谱上可以反映出来. 15 天后,由于枝孢霉菌的生长,改变了培养基的成分和 pH 值<sup>[5]</sup>,同时培养基中的营养物质逐渐不能供应微

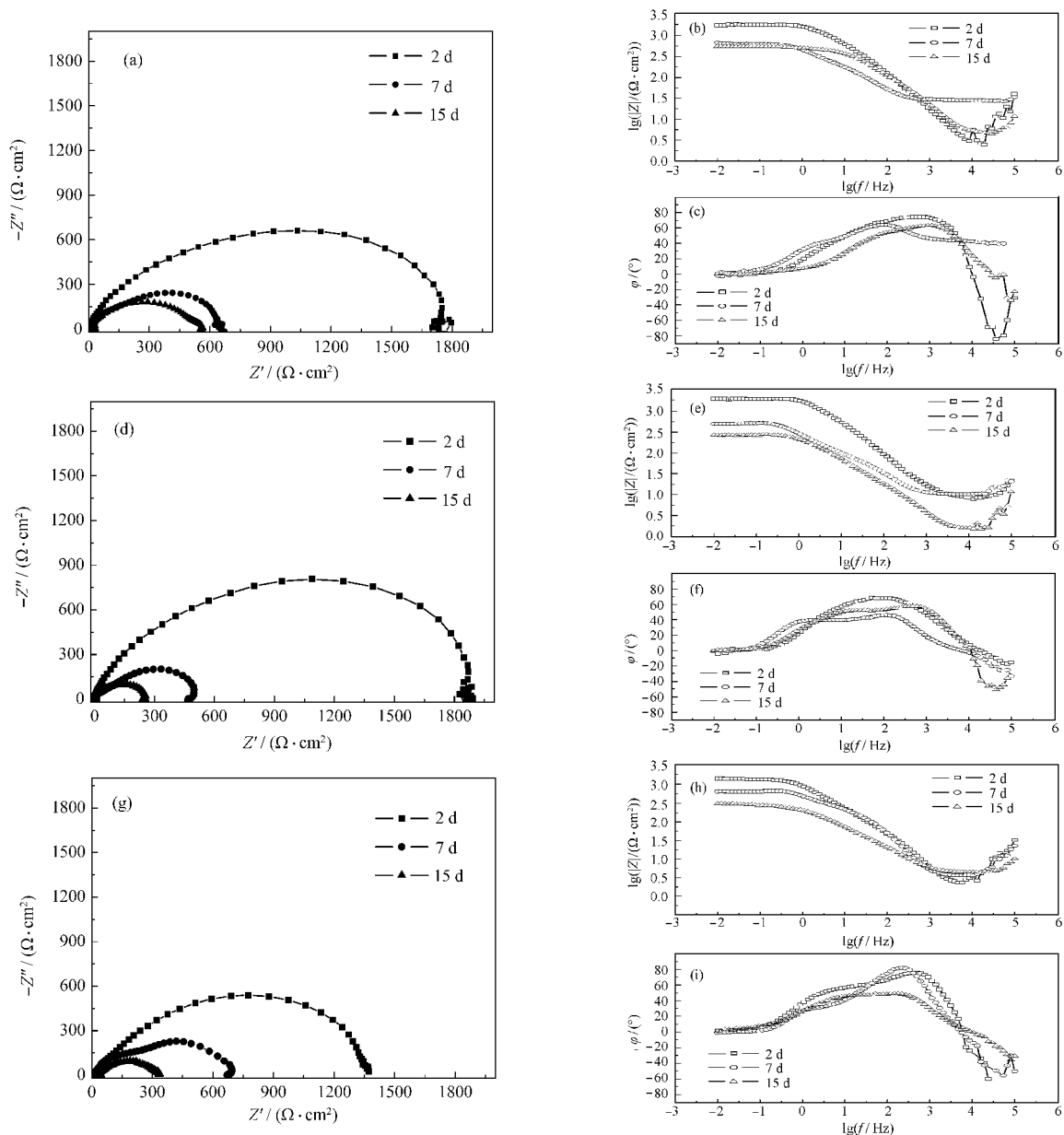


图3 在假单胞菌(a,b,c)、枝孢霉菌(d,e,f)和假-枝混合菌(g,h,i)体系中浸泡不同天数的 A3 钢电极的阻抗谱  
 Fig.3 EIS diagrams of steel A3 after different days of exposure in the *pseudomonas* solution (a, b, c), *cladosporium* solution (d, e, f), and *cladosporium-pseudomonas* solutions (g, h, i)

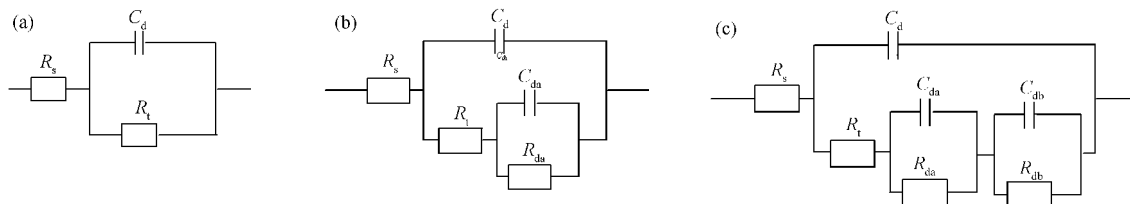


图4 不同体系的等效电路图

Fig.4 Equivalent circuit model for different systems

(a) after 2 d of exposure in the solutions; (b) after 7 d and 15 d of exposure in the solutions (except after 7 d of exposure in the mixed colony solution); (c) after 7 d of exposure in *pseudomonas-cladosporium* mixed colony solution;  $R_s$ : solution resistance,  $C_d$ : capacitance of the double layer,  $R_t$ : charge transfer resistance,  $C_{da}$ : capacitance of the biofilm,  $R_{da}$ : resistance of the biofilm,  $C_{db}$ : capacitance of the compact film formed by *pseudomonas*,  $R_{db}$ : resistance of the compact film formed by *pseudomonas*.

表 2 电化学等效电路中各个元件的参数值

Table 2 Electrochemical parameter values for each element in the equivalent circuit model

<i>t</i> /d	$R_i / (\Omega \cdot \text{cm}^2)$	$10^5 C_d / (\text{F} \cdot \text{cm}^2)$	$R_f / (\Omega \cdot \text{cm}^2)$	$10^6 C_d / (\text{F} \cdot \text{cm}^2)$	$R_{ds} / (\Omega \cdot \text{cm}^2)$	$10^4 C_{ds} / (\text{F} \cdot \text{cm}^2)$	$R_{db} / (\Omega \cdot \text{cm}^2)$	Error(%)
<i>pseudomonas</i> system								
2	19.5	3.346	1722.0	-	-	-	-	3.578
7	7.3	5.514	208.6	312.2	395.5	-	-	3.298
15	6.1	12.180	0.5	6.053	573.5	-	-	4.168
<i>cladosporium</i> system								
2	11.9	1.698	1765.0	-	-	-	-	3.909
7	13.0	72.350	304.2	28.91	280.0	-	-	6.316
15	4.8	6.457	20.2	512.6	244.8	-	-	8.197
<i>pseudomonas-cladosporium</i> mixed colony system								
2	19.6	3.346	1727.0	-	-	-	-	5.931
7	11.3	3.305	10.1	0.03881	257.9	3.393	399.3	9.952
15	5.8	6.161	30.2	769.3	286.5	-	-	2.038

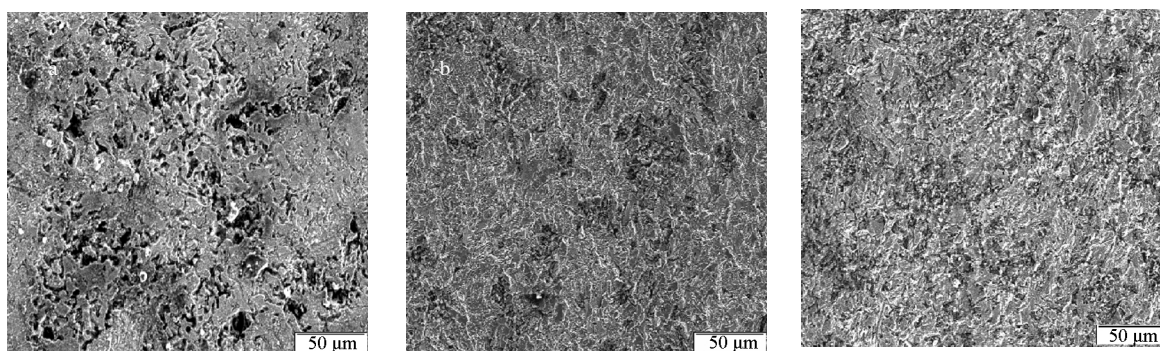


图 5 A3 钢在不同体系中腐蚀的 SEM 形貌照片

Fig.5 SEM morphologies of steel A3 for different solutions

(a) *cladosporium* solution; (b) *pseudomonas* solution; (c) *pseudomonas-cladosporium* mixed colony solution

生物的新陈代谢, 细菌活性下降, 死亡速率大于繁殖速率, 活菌数量减少, 使得破坏铁-胞外聚合物层的速率大于其形成膜层的速率, 体系阻抗值继续减小, 腐蚀速率增大。

#### 2.4 表面分析

将挂片从腐蚀体系中取出, 去除腐蚀产物后进行 SEM 观察, 结果如图 5 所示。可以看出, 假单胞菌体系中金属表面比较平整, 没有发生局部腐蚀, 而枝孢霉菌体系和假-枝混合菌体系, 都发生了明显的局部腐蚀, 挂片表面布满了点蚀坑。枝孢霉菌体系中, A3 钢表面的点蚀坑较大, 众多小点蚀坑相连之处形成了更大的蚀坑; 在假-枝混合菌体系中, 挂片表面腐蚀坑较小, 说明假单胞菌的存在, 阻止了 A3 钢点蚀的发展, 这与动电位扫描和电化学阻抗谱测量得到的结果一致。

### 3 结论

1) 极化曲线结果表明, 假单胞菌的存在影响了 A3 钢在枝孢霉菌体系中的阳极反应的过程, 使 A3 钢的腐蚀电流减小。

2) 电化学阻抗谱的分析结果表明, 随着浸泡时间的延长, A3 钢在假-枝混合菌体系中的阻抗在第 7 天时开始大于相同浸泡天数的枝孢霉菌单种菌体系, 假单胞菌的存在降低了枝孢霉菌对 A3 钢的腐蚀; 第 7 天时, 枝孢霉菌体系中 A3 钢表面形成了疏松的生物膜, 在假-枝混合菌体系中, 不仅存在一个相对疏松的生物膜层, 还存在另外一个致密的膜层, 它阻滞了 A3 钢的腐蚀。

3) SEM 结果表明, A3 钢在枝孢霉菌和假-枝混合菌体系中均表现为局部腐蚀, 单种菌体系中的点蚀坑大而深, 混合菌体系中的点蚀坑小而浅, 假单胞菌的存在阻止了 A3 钢表面点蚀的发展。多种菌共同作用下对金属的作用机制和腐蚀机理有待于进一步的探讨。

## References

- 1 Liu, J. H.; Liang, X.; Li, S. M. *Journal of Rare Earths*, **2006**, **24**(1): 81 [刘建华, 梁馨, 李松梅. 中国稀土学报, **2006**, **24**(1): 81]
- 2 Liu, J. H.; Liang, X. *Acta Metallurgica Sinica*, **2005**, **41**(5): 545 [刘建华, 梁馨. 金属学报, **2005**, **41**(5): 545]
- 3 Liu, J. H.; Li, S. M.; Yang, Y. G.; Wu, X. L. *Journal of Beijing University of Aeronautics and Astronautics*, **2000**, **26**(6): 624 [刘建华, 李松梅, 杨应广, 吴晓玲. 北京航空航天大学学报, **2000**, **26**(6): 624]
- 4 Liu, J. H.; Yang, Y. G.; Wu, X. L.; Li, S. M. *Acta Aeronautica et Astronautica Sinica*, **2000**, **21**(supplement): 48 [刘建华, 杨应广, 吴晓玲, 李松梅. 航空学报, **2000**, **21**(增刊): 48]
- 5 Tao, Z. P.; Liang, X.; Liu, J. H.; Wang, X. Q. *Acta Petrolei Sinica (Petroleum Processing Section)*, **2006**, **22**(2): 98 [陶治平, 梁馨, 刘建华, 汪燮卿. 石油学报: 石油加工, **2006**, **22**(2): 98]
- 6 Valcarce, M. B.; de Sanchez, R.; Vazquez, M. *Corrosion Science*, **2005**, **47**: 795
- 7 Morales, J.; Esparza, P.; Gonzalez, S.; Salvarezza, R.; Arevalo, P. *Corrosion Science*, **1993**, **34**: 1531
- 8 Yu, A. Z.; Deminb, V. V.; Kurakova, A. V. *Organic Geochemistry*, **2002**, **33**(3): 347
- 9 Alexandra, S.; Miroslava, G.; Jaroslav, S. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **2004**, **54**(1): 7
- 10 Zinkevich, V.; Kang, H.; Bogdarina, I.; Hill, M. A.; Beech, I. B. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **1996**, **37**: 163
- 11 Kh, M.; Ismail, A.; Jayaraman, T. K.; Wood, J. C. *Earthman. Electrochimica Acta*, **1999**, **44**: 4685
- 12 Gunasekaran, G.; Chongdar, S.; Gaonkar, S. N.; Kumar, P. *Corrosion Science*, **2004**, **46**: 1953
- 13 Chongdar, S.; Gunasekaran, G.; Kumar, P. *Electrochimica Acta*, **2005**, **50**: 4655