

# 生物膜和腐蚀产物膜对 A3 钢的腐蚀作用研究

林 晶<sup>\*1,2</sup>, 阎永贵<sup>2</sup>, 陈光章<sup>2</sup>, 刘光州<sup>2</sup>, 李庆芬<sup>1</sup>

(1: 哈尔滨工程大学机电工程学院, 黑龙江 哈尔滨, 154001; 2 海洋腐蚀与防护国防科技重点实验室, 山东 青岛, 266071)

**摘要:** 应用电化学方法和表面分析技术 (AFM 和 SEM) 研究硫酸盐还原菌 (SRBB) (生物环境) 及其腐蚀产物 (非生物环境) 对 A3 钢腐蚀行为的影响以及 A3 钢在两种不同环境下的腐蚀特征. 结果表明: 于不同时期生成的微生物膜和腐蚀产物膜, 对材料的腐蚀起着不同的作用. 生成的生物膜越厚越容易剥落, 而不均匀的微生物膜将引起材料的局部腐蚀. 在非生物环境中生成的腐蚀产物膜比在生物环境中生成的膜更加紧密地黏附于金属的表面.

**关键词:** SRB; 硫离子; 硫化物; 生物膜; A3 钢

**中图分类号:** TG 172.7

**文献标识码:** A

微生物腐蚀是指微生物引起的腐蚀或受微生物影响的腐蚀 (Microbiologically Influenced Corrosion). 当金属表面存在微生物膜时, 金属表面微生物膜界面的 pH 值、溶解氧的浓度、有机和无机物的种类及其浓度都大大有别于本底溶液. 生物膜内的反应改变了腐蚀的机理和速率<sup>[1]</sup>, 由硫酸盐还原菌 (SRB) 新陈代谢引起的于金属和溶液界面之间可产生几种硫的化合物, 诸如最终的代谢产物 (硫化物, 二硫化物, 硫化氢) 和中间代谢产物 (硫代硫酸盐, 连多硫酸盐), 这些化合物主要通过阳极极化来促进腐蚀<sup>[2]</sup>. 因而在 A3 钢的微生物腐蚀过程中所产生的硫化物膜, 其特征和结构对腐蚀的影响很大. 金属/微生物膜/溶液界面之间的环境特征和溶液的 pH、氧含量等都影响硫化物膜的物理化学特性. 可以把保护性的膜变化成促进腐蚀的膜, 或者反之. 然而薄的 FeS 层具有保护作用, 厚的疏松的沉积物促进腐蚀<sup>[3]</sup>.

## 1 实验材料及方法

### 1.1 试样

工作电极为 A3 钢, 成分为:  $w(\text{C})$  0.2%,  $w(\text{Mn})$  - 0.4%,  $w(\text{Si})$  0.10%,  $w(\text{P})$

0.016%,  $w(\text{S})$  0.08%,  $w(\text{Al})$  0.011%,  $w(\text{Fe})$ , 余量. 圆柱形试样, 截面积  $1\text{ cm}^2$ , 除留一面为工作面外, 其余部分用环氧树脂封装. 用于 SEM 和 AFM 观察的试样电极尺寸为:  $20\text{ mm} \times 20\text{ mm} \times 2\text{ mm}$ . 该电极依次经 400<sup>#</sup>、600<sup>#</sup>、800<sup>#</sup>、1200<sup>#</sup> 砂纸逐级打磨后, 丙酮除油, 蒸馏水洗净后放置干燥器内备用.

### 1.2 菌种来源、培养基及培养条件

SRB 菌种取自青岛海泥中的未经纯化的细菌, 放在 Postgate C 培养基中, 于容量瓶密封培养, 并利用培养基加满的方式排出氧气, 取得相对的厌氧环境, 恒温 30<sup>°C</sup>, 3 d 后 Postgate C 变黑, 并闻到刺鼻的  $\text{H}_2\text{S}$  气味, 证明培养基中有 SRB 存在, 将该容量瓶置于冰箱中冷藏保存, 作为本实验的菌种.

实验时, 取上述的菌种 30 mL 置于 1L 容量瓶中, 用新鲜的培养基加满, 在生化培养箱 30<sup>°C</sup> 培养 3 d, 备作实验初始菌液, 菌液中的细菌数量为  $10^5$  个/mL. 细菌用 MPN 法测量, 硫酸盐还原菌记数按 API RP-38 执行.

使用 API RP-38 推荐的培养基, 培养温度为  $37 \pm 1$ . 成分为:  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.5 g,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  1.0 g,

$\text{NaSO}_4$  2.26 g,  $\text{CaCl}_2$  0.1 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2.0 g,  $\text{NaCl}$  20 g, 维生素 C 0.1 g, 50% ~ 60% 乳酸钠 5 mL, 酵母汁 1.0 g, 海水 1 000 mL, 用  $\text{NaOH}$  调节 pH 值至 7.2, 在灭菌锅里消毒 20 min, 冷却后加入经紫外线消毒的硫酸亚铁按。

### 1.3 电解池

使用 1000 mL 的双三孔电解池如图 1 所示<sup>[4-5]</sup>, 其左侧装有培养基溶液并接种 SRB, 右侧是灭菌海水, 两侧由当中夹有微孔滤膜的过滤器连接。这样, 左侧的 SRB 代谢产物  $\text{S}^{2-}$  和有机酸便可以通过滤膜扩散到右侧。工作电极为 A3 钢, 对电极为铂丝, 参比电极为饱和甘汞电极。

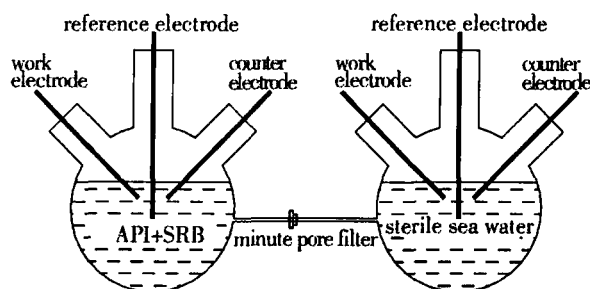


图 1 A3 钢微生物腐蚀的双电解池测定装置

Fig 1 Double electrolytic cell

### 1.4 电化学方法

动电位极化曲线的测量使用 M273 腐蚀测试系统 (EG&G 公司)。扫描范围  $-880 \sim -220 \text{ mV}$ , 之后再回扫, 扫描速率  $0.5 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , 电化学阻抗使用 M273 交流阻抗测试系统 (EG&G 公司), 交流幅度  $\pm 10 \text{ mV}$ , 频率范围  $100 \text{ kHz} \sim 5 \text{ mHz}$ 。

### 1.5 表面分析方法

以云母片作基体, 把它和 A3 钢挂片同时放入

接种了 SRB 的电解池中, 用原子力显微镜 (AFM) 的接触模式观察细菌的形态、细菌在云母片上的吸附和聚集<sup>[6-8]</sup>。AFM 使用  $150 \mu\text{m}$  的扫描器, 微悬臂的材料是  $\text{Si}_3\text{N}_4$ ,  $k = 0.09 \text{ N/m}$ , 扫描速率  $1 \text{ Hz}$ 。用扫描电子显微镜 (SEM) 观察微生物膜的腐蚀产物膜形貌, 配套的电子能谱仪 (EDXA) 分析腐蚀产物的组成。取出的腐蚀产物经蒸馏水轻轻清洗, 再依次用 30%、50% 和 70% 的乙醇脱水 10 min, 最后用 95% 的乙醇脱水 20 min 放入干燥器中待用。

## 2 结果和讨论

### 2.1 不同体系的动电位极化曲线

图 2 为应用动电位扫描法测量 A3 钢在双电解池于含和不含 SRB 溶液中经不同浸泡 (接种) 时间后于其两侧的极化曲线。图 2a 示明, 浸泡 1 d 没有明显的滞后环产生, 可见在此期间内 SRB 的生长还处于滞留期, 腐蚀产物很少, 材料基体表面也还没有形成微生物膜和腐蚀产物膜, 只发生以活性溶解为主要特征的腐蚀。至浸泡 7 d (图 2b), SRB 正处于对数生长期, 由于该微生物膜和吸附的腐蚀产物已在材料表面形成了一层保护膜, 使接种 SRB 一侧 (左侧) 的极化曲线出现很大的滞后环, 并有明显的钝化行为。从实验中可以看到挂片的表面上有一层滑粘的膜, 把它清除后又露出一层黑色的腐蚀产物膜, 经 XRD 分析是  $\text{FeS}$ , 此时溶液的 pH 值相应减小, 发生了以钝化为主要特征的腐蚀。但腐蚀产物从左侧扩散到右侧的还很少, 没有形成致密的腐蚀产物膜。浸泡 14 d (图 2c) 后, 接种 SRB 侧的滞后环继续增大, 但钝化趋势减小, 说明微生物膜和腐蚀产物膜脱落, 腐蚀加剧。腐蚀产物侧的极化曲线有明显的滞后环和钝化现象, 并出现了黑色

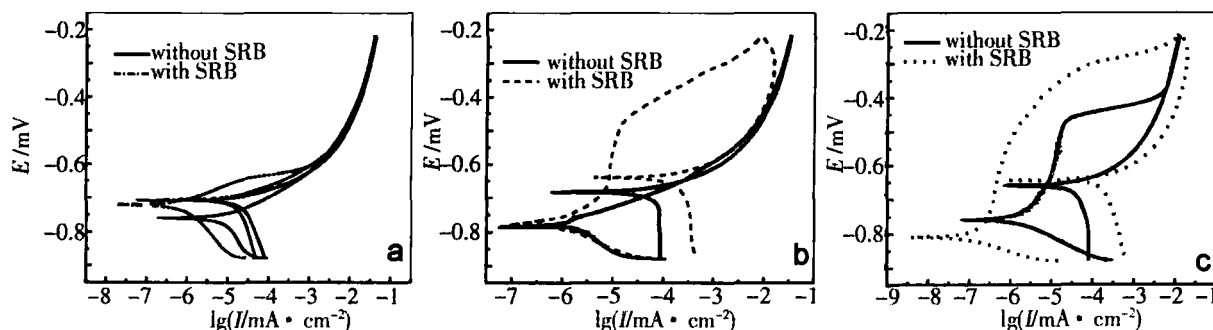


图 2 在含和不含 SRB 溶液中浸泡时间对 A3 钢动电位极化曲线的影响

Fig 2 Influence of immersing time on potentiodynamic polarization of A3 steel in the solution with SRB and without SRB

a) 1 d, b) 7 d, c) 14 d

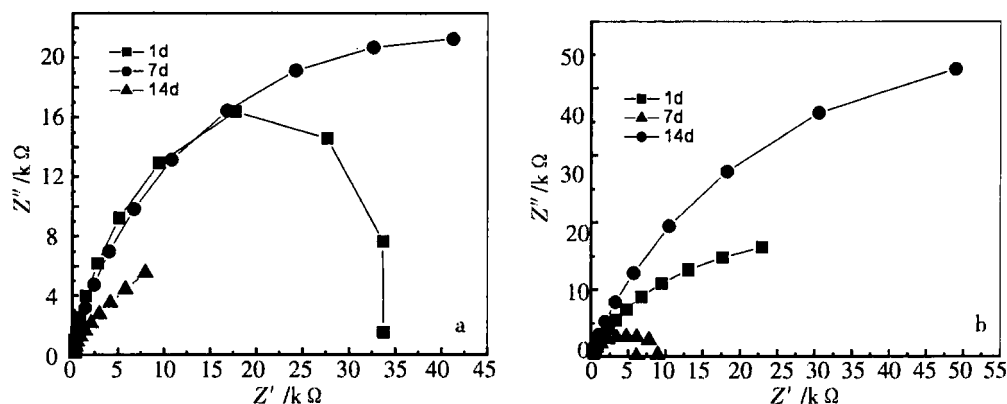


图 3 A3 钢在生物和非生物介质中经不同浸泡时间的阻抗谱

Fig 3 EIS of the A3 steel immersed in biogenic solution (a) and abiotic solution (b) with different immersed time

的 FeS 膜. 也就是说随着溶液中  $\text{Fe}^{2+}$  和  $\text{S}^{2-}$  的增多, FeS 膜变得致密, 发生以钝化为主的腐蚀. 电解池两侧没有同时生成 FeS 膜的原因可能是由于扩散到右侧的  $\text{S}^{2-}$  与左侧的  $\text{S}^{2-}$  存在量互有不同所致.

## 2.2 不同体系的电化学阻抗谱

图 3 是 A3 钢在双电解池两侧浸泡不同时间的阻抗谱, 图中表明, 在接种 1 d 的电解池左侧, A3 钢的表面极化电阻 (图 3a)  $R_p$  经等效电路 (图 4) 拟合为 34 k, 而浸泡 7 d 的  $R_p$  为 87 k, 浸泡 14 d 后,  $R_p$  则下降至 23 k. 由此可知, 在 SRB 生长初期 (1~7 d), 可能是由于此时生成的微生物膜和腐蚀产物膜对金属的腐蚀有一定的阻滞作用, 因而  $R_p$  上升, 意味着腐蚀减弱. 但 14 d 后急剧下降表明生物膜下的金属进入快速腐蚀状态. 右侧的阻抗变化 (图 3b) 从 1 d 到 7 d, 其极化电阻  $R_p$  都处于不断减小的过程, 可见这时的腐蚀产物  $\text{S}^{2-}$  和有机酸都促

进了腐蚀, 但经过 14 d 浸泡后, 随着左侧扩散过来的  $\text{S}^{2-}$  增多, 并和基体表面的  $\text{Fe}^{2+}$  形成了致密的 FeS 膜, 从而 A3 钢表面的极化电阻相应变大.

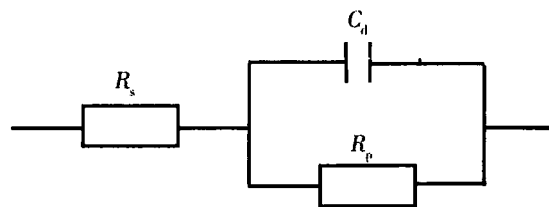


图 4 A3 钢电极的等效电路图

Fig 4 Equivalent circuit of the A3 steel electrodes

## 2.3 表面分析

### 1) 云母片上细菌的吸附和聚集

图 5 是在接种 SRB 的海水中经浸泡 4 h 后云母片上的细菌吸附的 AFM 映像. 如图, SRB 的形态为长杆形, 无鞭毛, 其细胞尺寸为  $1.474 \mu\text{m} \times$

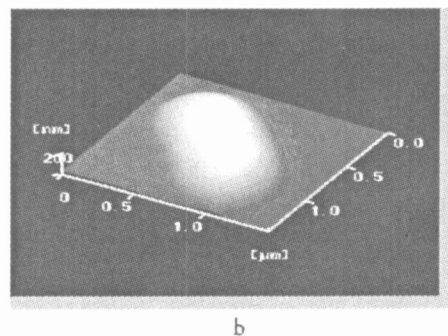
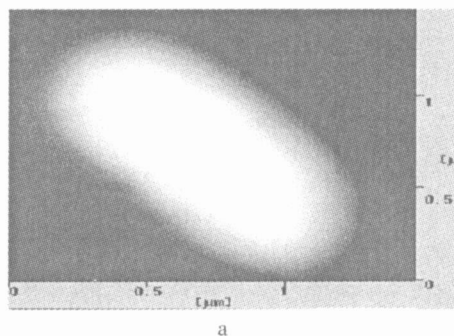


图 5 由 AFM 的接触模式观察到的吸附在云母表面的单个 SRB 照片 a) 2 维, b) 3 维

Fig 5 Contact mode AFM images of a mica surface with a SRB cell a) 2-D display, b) 3-D display

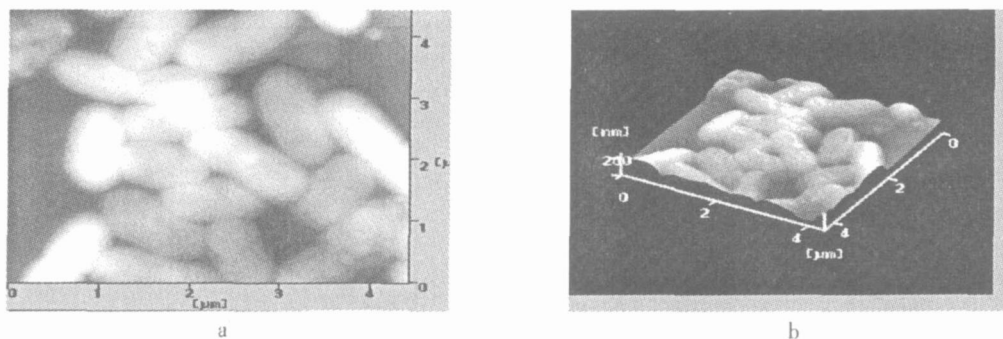


图 6 由 AFM 接触模式观察到的云母表面的 SRB 聚集 a) 2 维 b) 3 维

Fig 6 Contact mode AFM images of a mica surface with clustered SRB cells a) 2-D display b) 3-D display

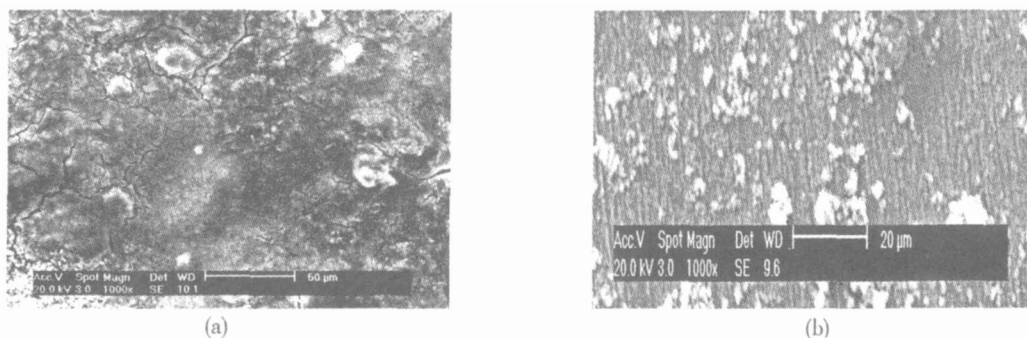


图 7 A3 钢浸泡 7 d 后表面生成的微生物膜 (a) 和腐蚀产物膜 (b) 的 SEM 照片

Fig 7 SEM image of the A3 steel of biofilms (a) and corrosion product films (b) after immersed 7 d

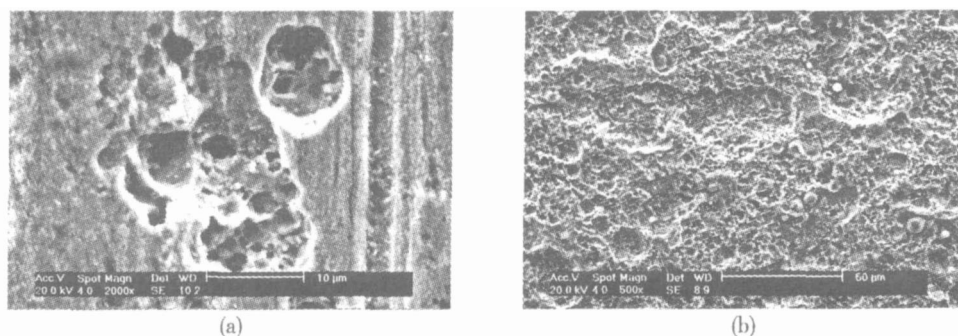


图 8 A3 钢于含和不含 SRB 溶液中经浸泡 14 d 的腐蚀形貌 a) 接种 SRB b) 无 SRB

Fig 8 SEM micrographs of A3 steel exposed to SRB (a) and without SRB (b) after immersed 14 d

0.706  $\mu\text{m}$   $\times$  0.24  $\mu\text{m}$ . 图 6 是浸泡 1 d 后取出的云母片, 可以看到此际细菌紧密地聚集在云母片上, 细菌的形态清晰可见, 微生物膜在整个云母片的表面呈不均匀的分布。

## 2) 扫描电子显微镜观察表面形貌

于双电解池的两侧同时挂入 A3 钢挂片, 经过不同的浸泡 (接种) 时间取出观察. 其生成的微生物膜的形貌结构如图 7 所示. 由图可见, 接种了 SRS 的一侧经浸泡 7 d 形成比较致密的微生物膜

(a), 而在腐蚀产物一侧 (b) 则表面变得凹凸不平, 能谱分析显示, 突起处含有较多的 S 而对含有 SRB 的左侧电解池的试片, 去除腐蚀产物后可发现开始有点蚀发生, 而且电蚀坑里含有较多的 S 至浸泡 14 d 去除腐蚀产物后, 即如图 8 所示, 其左侧试片可观察到较深的腐蚀坑 (a), 而右侧的试片腐蚀较轻, 整个表面呈现出均匀腐蚀状态 (b).

### 3 结 论

1) SRB 的存在对 A3 钢的腐蚀影响显著. 微生物膜的形成是由于细菌的吸附系以菌落的形式出现, 菌落下富含腐蚀产物, 进而形成局部腐蚀电池, 促进 A3 钢表面点蚀形成和发展, 所以 A3 钢的微生物腐蚀以点蚀形式为主.

2) 非生物环境中形成的腐蚀产物膜也影响了 A3 钢的腐蚀, 但较生物环境中微生物膜的影响小很多, 这也与扩散产生的  $S^{2-}$  和有机酸量不同有关.

### 参考文献 (References):

- [1] Evans T E, Chart A, Skedgell A N, et al The colored film on stainless steel[J]. Trans Inst of Metal Finish, 1973, 51 (3): 108 ~ 112
- [2] Videla H étor A. Biocorrosion and biofouling of metals and alloys of industrial usage. Present state of the art at the beginning of the new millennium [J]. Revista de Metalurgia (Madrid), 2003, spec volume: 256 ~ 264
- [3] Videla Hector A. Compative study of the corrosion product films formed in biotic and abiotic media (reprint No. 163) [C]. Corrosion, NACE International, USA, 1999: 1 ~ 12
- [4] Mcneil M B, Little B J. Mackinawite Formation During Microbial Corrosion [J]. Corrosion, 1990, 46: 599 ~ 600
- [5] Little B J, Wagner P. Involvement of a thermophilic bacterium in corrosion processes [J]. Corrosion, 1986, 42: 533
- [6] Wadsak M, Schreiner M. A comparison of preparation methods of copper surfaces for in situ scanning force microscopy investigations[J]. Applied Surface Science, 2000, 157: 39 ~ 46
- [7] Fang Herbert H P, Chan Kwong-yu, Xu Li-chong Quantification of bacterial adhesion forces using atomic force microscopy[J]. Journal of Microbiological Methods, 2000, 40: 89 ~ 97
- [8] Xu Li-Chong, Chan Kwong-Yu Application of atomic force microscopy in the study of microbiologically influenced corrosion[J]. Materials Characterization, 2002, 48: 195 ~ 203

## Effects of SRB Biofilm and Corrosion Product Films on Corrosion Behavior of Carbon Steel

L N Jing<sup>\*1,2</sup>, YAN Yong-gui<sup>2</sup>, CHEN Guang-zhang<sup>2</sup>,  
L U Guang-zhou<sup>2</sup>, L I Qing-fen<sup>1</sup>

(1. Mechanics & Electronics Engineering School, Harbin Engineering University, Harbin 154001, Heilongjiang, China,

2. State Key Laboratory for Marine Corrosion and Protection, Qingdao 266071, Shandong, China)

**Abstract:** Electrochemical techniques and surface analysis techniques were applied to study corrosion characteristic of A3 steel. The effects on corrosion behavior of A3 steel by sulfate-reducing bacteria (SRB) (biotic media) and corrosion product (abiotic media) were studied. The results showed that biofilms and corrosion product films play different role during different stages. Biofilms were easier flaky with increasing of its thickness. Non-uniform biofilms reduced pitting corrosion of the specimens. The corrosion product films formed under abiotic conditions were more adherently to the surface of the metal than those formed in biogenic media.

**Key words:** SRB, S iron, Sulfide, Biofilms, A3 steel