

金属表面混合微生物腐蚀及分析方法研究进展

许萍, 任恒阳, 汪长征, 张雅君

(北京建筑大学 水环境国家级实验教学示范中心 城市雨水系统与水环境省部
共建教育部重点实验室, 北京 100044)

摘 要: 微生物腐蚀研究一直都是金属腐蚀领域关注的热点, 微生物种类的不同, 对金属材料的腐蚀影响也不尽相同。实际环境中, 微生物的复杂性导致单一微生物的腐蚀机理并不能完全解释实际的腐蚀现象, 因此混合微生物体系研究成为微生物腐蚀领域新的研究方向。在基于单种微生物对金属的腐蚀行为及其腐蚀机理的研究基础上, 综述了两种微生物的混合体系在金属表面对其腐蚀的影响。归纳总结了混合微生物的构成, 重点综述了含有 SRB、IOB 和其他典型微生物的混合体系的作用过程, 分析了混合体系中, 不同微生物的相互作用(如协同、竞争作用等)对金属腐蚀影响。梳理了目前混合微生物体系研究的实验环境, 并针对混合微生物体系在金属表面腐蚀微观的研究, 介绍了几种技术, 以期能更加直观地显示混合体系中微生物间的作用机制。最后对研究两种微生物混合体系下的金属腐蚀问题提出了建议和发展方向。

关键词: 混合微生物体系; 微生物腐蚀; 金属腐蚀; 相互作用; 作用机理; 生物膜

中图分类号: TG172 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3660(2019)01-0216-09

DOI: 10.16490/j.cnki.issn.1001-3660.2019.01.028

Research Progress on Mixture Microbial Corrosion and Analytical Method on Metal Surface

XU Ping, REN Heng-yang, WANG Chang-zheng, ZHANG Ya-jun

(Provincial Key Laboratory for Urban Rain Water System and Water Environment of Ministry of Education,
National Experimental Teaching and Demonstration Center for Water Environment,
Beijing University of Civil Engineering and Architecture, Beijing 100044, China)

ABSTRACT: Microbiologically influenced corrosion (MIC) is always a hot topic in the field of metal corrosion. Different microbial species also have different effects on the corrosion of metal materials. The corrosion mechanism of single microorganism in actual environment could not fully explain the actual corrosion phenomenon due to the complexity of microorganism. In recent years, the study of mixture microorganism system has become a new research direction in the field of microbiologically influenced corrosion. The corrosion of mixture microorganism system of two microorganisms on metal surface was discussed according to the research on corrosion behavior and corrosion mechanism of single microorganism. The composition of the mixed microorganism was summarized, and the action process of the mixed system containing SRB, IOB and other typical microor-

收稿日期: 2018-08-02; 修订日期: 2018-10-07

Received: 2018-08-02; Revised: 2018-10-07

基金项目: 国家自然科学基金(51578035); 北京建筑大学研究生创新项目(PG2018043)

Fund: Supported by National Natural Science Foundation of China(51578035), The BUCEA Post Graduate Innovation Project(PG2018043)

作者简介: 许萍(1971—), 女, 博士, 教授, 主要研究方向为水资源再生利用理论与技术、管道微生物腐蚀与控制技术。邮箱: xuping@bucea.edu.cn

Biography: XU Ping (1971—), Female, Doctor, Professor, Research focus: reuse of water resources theory and technology, pipeline microbial corrosion and control technology. E-mail: xuping@bucea.edu.cn

ganism was analyzed, and the effects of the interactions of different microorganisms in the mixed system on metal corrosion, such as synergism and competition, were studied. The experimental environment of current mixed microorganism system was reviewed. Several technologies were introduced to study the corrosion microstructure of mixed microorganisms on metal surface in order to show the interaction mechanism of microorganism in the mixture system more directly. Some suggestions and development directions for the study of corrosion problems in mixed microorganism system were proposed.

KEY WORDS: mixture microorganisms; microbiologically influenced corrosion; metal corrosion; interaction; mechanism; biofilm

微生物在工业系统、海洋环境、城市管道等系统中普遍存在,而微生物对系统材料的腐蚀也有诸多报道^[1-2],其中,微生物对金属材料造成的腐蚀约占金属材料腐蚀的 20%^[3-4]。

微生物腐蚀的首次报道为 1891 年 Garrett 提出的铅电缆的腐蚀是细菌代谢产物作用的结果^[5]。1934 年, Wolyogen kunr 等人^[6]提出了阴极氢去极化理论,使得微生物腐蚀研究由腐蚀现象进入到腐蚀机理阶段。微生物的腐蚀行为和机理研究主要集中在实验室的单种微生物研究,然而自然界环境中,附着在材料表面的往往是微生物群落。不同的微生物拥有不同的代谢能力,在自然环境中,微生物群落能释放多种信号分子相互“沟通”,形成协同或竞争代谢,发挥出单种微生物无法发挥的功能^[7]。各系统中,微生物腐蚀是由不同种类的微生物协同或相互作用的结果^[8-9]。微生物之间的相互作用包括合作、竞争、信号分子传递及水平基因转移等。研究自然环境中多种微生物内部之间的相互作用,不仅对理解多种微生物腐蚀共同结果具有重要意义,而且还可以更接近实际腐蚀环境,为防止或减缓微生物腐蚀提供理论指导^[10]。

本文以研究较多的两种微生物混合体系(以下统称为“混合微生物体系”)为例,综述了混合微生物体

系的微生物种类及微生物对金属材料的腐蚀作用过程,并介绍了混合微生物体系的系统环境和在金属表面监测微生物及其影响的腐蚀分析技术,如荧光显微、电化学和微电极等技术。

1 混合微生物对金属的腐蚀

1.1 混合微生物的构成

在微生物腐蚀领域,研究较多的微生物主要有以下几类:硫循环中包括硫酸盐还原菌(Sulfate reducing bacteria, SRB)、硫氧化菌(Sulfure oxidizing bacteria, SOB);铁循环中包括铁还原细菌(Iron reducing bacteria, IRB)、铁氧化细菌(Iron oxidizing bacteria, IOB);氮循环中包括硝化细菌、硝酸盐还原菌(Nitrate reducing bacteria, NRB);此外,还有产酸菌(Acid producing bacteria, APB)和产黏液菌(Slime forming bacteria, SFB)等。其中,针对含 SRB、IOB 的混合微生物体系研究较多。根据相关文献研究,梳理部分混合微生物体系研究的微生物种类,见表 1。本文对含 SRB、IOB 及其他典型类别微生物的混合微生物体系进行介绍。

表 1 微生物腐蚀研究中部分混合微生物体系选用的微生物种类
Tab.1 Type of microorganisms of mixed microbial systems in the study of microbial corrosion

Microorganism (I)	Type	Microorganism (II)	Type	Environment	Reference
<i>Desulfotomaculum nigrificans</i>	SRB	<i>Pseudomonas sp</i>	IOB	Oilfield produced water	[11]
<i>Desulfovibrio vulgaris</i>	SRB	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	DNB	3.5% NaCl water	[12]
<i>Desulfovibrio sp</i>	SRB	<i>Pseudoalteromonas sp</i>		Natural seawater	[13]
SRB	SRB	<i>Enterobacteriaceae</i>		Marine biofilm	[14]
<i>Desulfovibrio gigas</i>	SRB	<i>Bacillus sp.</i>		Freshwater reactor	[15]
<i>Streptomyces</i>	Actinomycetes	<i>Nocardia sp</i>	Actinomycetes	Leathen-PDA medium	[16]
<i>Desulfovibrio sp</i>	SRB	<i>Vibrio alginolyticus</i>		Seawater	[17]
SRB	SRB	<i>Vibrio azureus</i>		Seawater	[18]
<i>Pseudomonas</i>		<i>Iron bacteria</i>	IOB	Culture medium	[19]

1.1.1 含有 SRB 的混合微生物体系

SRB 可以氧化有机物或氢,把硫酸盐、亚硫酸盐等作为电子受体还原成 H₂S,从而获得能量。SRB 和 IOB 作为腐蚀金属材料的两类典型细菌,在混合微生物体系中常被作为研究对象。有学者在 SRB 与 IOB 的混合条件下,研究不同阶段的氧浓度对 316 不锈钢

腐蚀的影响发现,二者相互促进,会促使点蚀的发生^[11]。同样,在 SRB 与 IOB 的混合体系下发现,IOB 抑制了浮游的 SRB 生长,促进了碳钢表面 SRB 的生长,进而促进了 Fe₂O₃、Fe₃O₄ 的生成,从而抑制了碳钢的腐蚀^[20]。上述研究表明,虽然均为 SRB 和 IOB 的混合体系,但由于环境和时间的不同,其对金属的腐蚀

结果也不同。在研究 SRB 和 IOB 的同时,许多研究学者也开展了对 SRB 与其他微生物混合体系的研究。宗月等^[21]研究发现脱氮硫杆菌、硫化细菌、光和细菌、短芽孢杆菌以及假单胞菌等与 SRB 存在共生、拮抗或竞争的关系,但均有阻碍金属材料腐蚀的作用。郭军科等人^[22]探究了异养硝化菌和 SRB 对 304 不锈钢腐蚀的影响,表明混合作用下,304 不锈钢表面形成了均匀的生物膜,腐蚀速率小于单菌体系。Usher K M 等人^[23]对海洋腐蚀瘤中的古生菌与 SRB 进行了分析,表明两类细菌中,能够直接从金属获得电子的细菌是造成微生物腐蚀的主要菌种,如硫酸盐还原菌中的 *M. maripaludis*、古生菌中的产甲烷古菌。

研究含有 SRB 的混合微生物体系对金属腐蚀的影响主要是从微生物的呼吸类型(主要为厌氧)和代谢活动展开,而 SRB 对水环境中氧的要求则比较苛刻,氧的含量对其生长有很大的影响。与 SRB 具有协同作用的微生物主要是通过消耗氧或生成致密的生物膜和腐蚀产物阻隔氧,导致氧浓度下降,使 SRB 得到适宜的生长环境,进而促进腐蚀发生。而致密生物膜或腐蚀产物的形成在一定程度上又通过阻隔其他物质(如氧气、腐蚀性离子),抑制了金属腐蚀。

1.1.2 含有 IOB 的混合微生物体系

Fe 是一种活泼的金属,暴露在空气、水、土壤等环境下容易发生氧化还原反应。IOB 是一类可以通过氧化 Fe^{2+} 获得能量的微生物总称,其可加速金属的分解,使得腐蚀加重^[24]。IOB 可以在含铁的水环境下生长,对钢铁材料系统的腐蚀有着重要的影响,而与其他微生物混合,可能会使单一 IOB 条件下的腐蚀过程发生改变,使系统更加复杂。IOB 与 SRB 的混合体系前文已经提到,其混合体系阶段不同,对腐蚀的影响也不同。而对 IOB 与其他微生物混和体系的研究,科研人员也有涉及。Q235 钢在假单胞菌和 IOB 共同作用下的腐蚀行为的研究结果^[19]表明,与单种细菌相比,混合细菌体系中的自腐蚀电位升高,腐蚀电流密度减小,交流阻抗值随时间增大。扫描电镜结果显示,Q235 钢表面形成了均匀致密的腐蚀产物膜。在两种细菌共同作用下,Q235 钢腐蚀受到了抑制。有研究^[25]将 45 钢浸在含弧菌和铁细菌的混合培养基中,发现存在自由腐蚀电流和阻抗降低的现象。扫描电镜显示,混合细菌系统导致碳钢的腐蚀更严重,两种细菌的存在加速了 45 钢的腐蚀。

IOB 对金属的腐蚀主要是促进了腐蚀产物的生成,加速腐蚀的发生,而随着腐蚀产物堆积,反而在一定程度上对金属基底进行了保护。而在混合体系下,IOB 与其他微生物对金属腐蚀的作用存在差异,其他微生物若能促进腐蚀产物层的形成,其作用为抑制金属腐蚀;相反,如果能破坏腐蚀产物层的形成,IOB 则可以继续促进腐蚀产物的形成,加速腐蚀。

1.1.3 其他混合微生物体系

其他混合微生物体系主要为特定环境的优势菌种(如假单胞菌属等),相关的研究与实际环境更相近。脱硫弧菌和溶藻弧菌单独存在下的 907 钢腐蚀结果表明,氧的存在及营养物质的匮乏,抑制了脱硫弧菌的存活和繁殖,使溶藻弧菌很好地生存且生成生物膜,进而抑制了 907 钢的腐蚀。而在两者混合体系中,腐蚀抑制作用更加明显^[17]。研究混合微生物体系腐蚀的产物膜发现,腐蚀初期,腐蚀产物膜会阻碍物质的传递,进而抑制腐蚀,但后期出现的裂缝会导致营养物质或腐蚀性离子的传递差异,造成腐蚀加速^[26]。罗琦等人^[27]研究得出,假单胞菌与弧菌的协同作用对钢材材料腐蚀行为和电化学行为均有影响。Rajasekar A 等人^[28]对不同营养条件下的芽孢杆菌和假单胞菌腐蚀进行研究发现,在贫营养环境下,两种细菌通过形成钝化膜以及分泌 EPS,抑制点蚀的发生;而在富营养环境下,两种细菌又破坏钝化膜,促进了点蚀。营养物质的不同会影响微生物的代谢活动,造成腐蚀的不同。Wadood H Z 等人^[29]对枯草杆菌和铜绿假单胞菌混合的研究表明,两种细菌的共同作用使细胞代谢及其 EPS 钝化金属表面形成保护层,从而抑制腐蚀的进行。

很多研究学者针对混合微生物体系做了大量的研究,从典型菌到优势菌种,使得混合体系的研究取得了突破性的进展。上述混合微生物体系中,微生物在金属表面的主要影响有:1)微生物数量变化对腐蚀的影响;2)腐蚀产物形成保护层抑制腐蚀;3)微生物对电极电位的影响。同时,需要注意的是,腐蚀进行的阶段不同,也会使其促进或抑制腐蚀的影响发生变化。

1.2 混合微生物腐蚀作用机制

对于腐蚀机理的推测,目前大多数是指某一类微生物对材料的腐蚀机理,以 SRB 为例,有阴极去极化理论^[30]、浓差电池理论^[31-32]、代谢产物酸腐蚀理论^[33-34]、阳极区固定理论^[35-36]等。近些年,有学者^[37-40]还提出生物催化阴极还原理论和电化学微生物腐蚀理论等最新金属微生物腐蚀机理。金属材料腐蚀机理主要是通过腐蚀形貌的微观观察、金属表面微生物的数量及活性变化、生物膜及代谢产物成分、金属腐蚀产物的结构与晶型以及腐蚀后金属基底的粗糙度变化等进行判断^[41-42]。电化学技术可以通过电流电位的变化,监测金属离子溶解过程中电极反应的加速或抑制,进而判断腐蚀的加快或减缓。混合微生物腐蚀作用过程(机制)是根据单种细菌工况进行比较分析得出的。不同种类微生物之间存在对生命活动的相互影响,微生物种类之间相互作用的多样性和动态化会对多微生物体系的结构和对外功能产生重要影响^[43],使其与单种微生物腐蚀理论不同。混合微生物腐蚀作用过程的研究以单种微生物在腐蚀过程中的生命活动

为基础,主要研究两种微生物共同存在时的生理、生化变化,从而得出混合体系下腐蚀变化的原因。其研究相互作用的同时,多会从影响微生物生长的因素进行探索。在细菌的相互作用过程中,外部因素对不同细菌的生命活动影响不同,从而造成腐蚀的过程不同,如 DO、有机物、温度、pH 等。

混合微生物体系中,协同作用会抑制或促进金属材料腐蚀。这里的协同作用指的是两种微生物之间在各自正常的生命活动下,对金属材料腐蚀的抑制或促进会产生相同的影响。微生物的协同作用在自然界是一种普遍的现象,很多研究证实,协同作用促进了生物膜的形成和生物膜量的增加^[44-45]。研究较多的 SRB

和 IOB 的混合体系就是通过对氧需求的不同,促进了对金属的腐蚀。初期,混合体系使得碳钢的点蚀较为严重,SRB 和 IOB 混合体系的腐蚀机理过程如图 1 所示。首先,两种细菌会吸附在金属表面,SRB 由于严格厌氧,会集中在金属基底,而 IOB 位于表面;然后两种细菌分泌 EPS,形成生物膜,IOB 将 Fe^{2+} 氧化成 Fe^{3+} ,与 OH^- 结合形成腐蚀产物,下一阶段,生物膜和腐蚀产物的累积以及氧气的浓度下降,使 SRB 还原 SO_4^{2-} ,或通过 Fe 获得电子,同时产生 FeS ,促进点蚀加剧。混合微生物体系的协同作用也体现在一种微生物为另一种微生物提供生长条件(有机物、氧气、pH 等),进而对金属的腐蚀产生相同的影响。

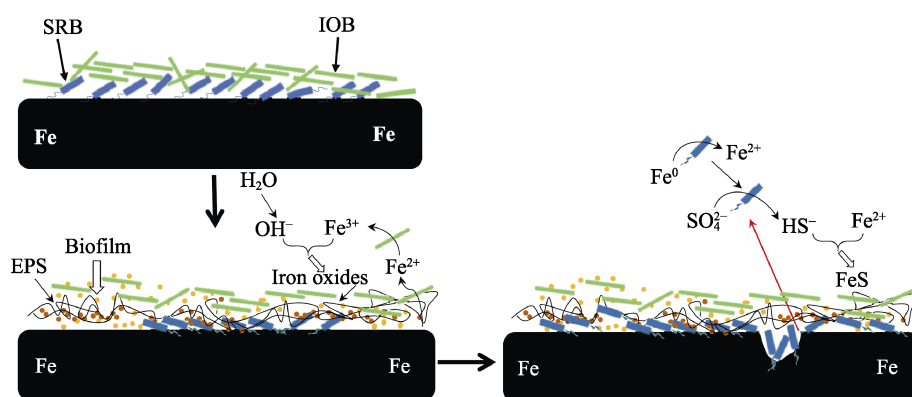


图 1 SRB 和 IOB 混合体系的腐蚀机理图^[23]

Fig.1 Image for corrosion mechanism of the mixture of SRB and IOB^[23]

混合微生物体系中的竞争作用抑制或促进金属材料的腐蚀。同一系统但生存的环境或群落不同,这样的混合微生物的合作作用很弱^[46-47]。两种微生物之间发生竞争作用,进而使得混合体系与其中占优势的微生物的腐蚀结果类似。大多微生物的研究取自同一环境,在腐蚀过程中,发生直接竞争的微生物较少,自然环境下微生物群落随着腐蚀的进行,出现结构更加丰富,微生物比例发生改变^[48-49]。研究的混合微生物由于呼吸类型、有机物丰富程度和微生物间代谢产物的差异,整体呈现的腐蚀过程与单种微生物作用不同。在发生竞争的混合微生物体系下,通常对微生物的数量、活性、代谢产物等进行改变,使得某种微生物获得优势,这与实际环境下优势菌种的出现或更替接近,这也是目前研究单种微生物腐蚀来代替自然环境微生物群落实际情况的依据。

2 混合微生物的研究环境与方法

2.1 研究体系

微生物腐蚀的环境有海洋、石油、市政管网等系统,原位条件下进行腐蚀实验存在着诸多因素的影响,因此混合微生物体系的研究主要从培养基、灭菌的原水水样和模拟原水的特定离子(或其他特征,如

温度、pH 等)方面进行。

为排除原水中的不定因素,有研究采用微生物的培养基或改良的培养基。在研究氧化硫硫杆菌和芽孢杆菌混合体系对 Q235 钢的腐蚀影响中^[50],采用的是改良的 Starkey 培养基和马铃薯培养基(Potato Dextrose Agar, PDA)以体积比为 2:1 混合构成的混合培养基,其 pH 为 4。Starkey 培养基适合氧化硫硫杆菌的生长,而改良的 Starkey 培养基适宜氧化硫硫杆菌和芽孢杆菌的生长,此外,马铃薯培养基还可提供有机物。采用该培养基也是与细菌来源——成品油储油罐底部的物质环境相近。Wu 等人^[13]研究了脱硫弧菌和假单胞菌对 Q235 碳钢的腐蚀行为,实验环境选用灭菌之后的原位海水,然后分别接种细菌,这种条件与富营养环境(多为培养基介质)不同,其腐蚀结果更加接近实际。当然,也有研究明确,可以在水质环境下开展特定或优势条件(如温度)的腐蚀研究。Liu 等人^[51]研究 SRB、IOB 及其混合异养菌在中央空调循环冷却水系统中对铝合金腐蚀速率的影响,分别在 30、45、60 °C 的市政饮用水环境下进行试验,结果显示,在温度较高的条件下,SRB 腐蚀速率更快,这与混合异养菌的情况接近。

不同的实验环境对微生物腐蚀影响也不同,因为在不同的条件下,微生物的生命活动会发生改变。混

合微生物体系因两种微生物的相互作用导致代谢产物和水质环境都可能发生改变,系统更加复杂。因此,混合微生物体系的研究应保证相对明确的实验水质环境,或突出某一特定条件(温度、pH等),这样有利于研究微生物对金属腐蚀的影响。

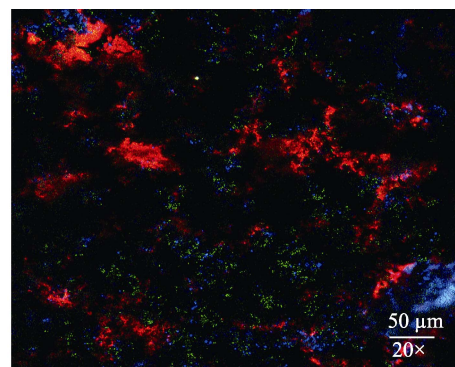
2.2 金属表面微生物活动的微观研究技术

在混合体系中,如何检测或显示微生物在金属表面的生命活动、分布聚集和对金属表面电极反应的影响等微观变化,应是探究微生物相互作用的重要问题。本文介绍了荧光显微技术构建混合微生物及其生物膜的三维结构,将生物膜立体化和易可视化。结合传统的电化学技术,重点分析混合微生物下的电极反应、电子传递变化,并利用微电极技术得到微观原位实时的相应物质变化。

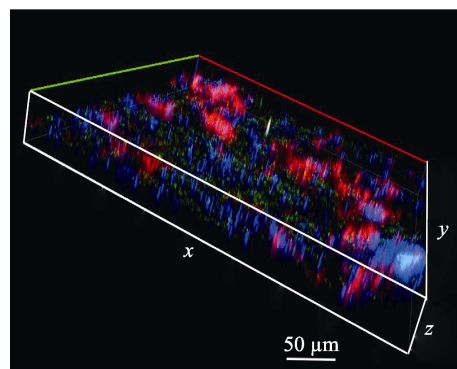
2.2.1 荧光显微技术

20 世纪 90 年代,激光扫描显微镜(Laser Confocal Microscopy, LSM)开始应用于微生物的分析研究^[52]。直到结合共轭聚焦装置后,发射连续光源来激发荧光探针被称为激光扫描共聚焦显微镜(Laser Scanning Confocal Microscopy, CLSM)。与 SEM、AFM 等显微镜相比,CLSM 可以实现高分辨率下的微生物观察,对生物膜进行断层扫描,以及成像分析其生物膜三维空间结构^[53-54]。CLSM 还可以与荧光标记技术结合研究生物膜,采用不同荧光染料可标记细胞或生物膜中的不同成分(如核酸、蛋白质、多糖等),从而对其进行动态地观测和半定量分析^[55-56],以获得细菌形成生物膜的动态过程中不同的量化数据,如生物膜厚度、各种荧光强度等^[12,57]。图 2 为利用不同染色剂 *E. coli* 和 *P. fluorescens* 混合体系,对碳钢表面的活菌、蛋白质和多糖的平面图和断层扫描的生物膜空间进行的荧光成像,由图可直接判断混合体系下微生物、多糖和蛋白质的分布。因此,在微生物腐蚀中,可应用 CLSM 对金属表面的生物膜进行观察分析。Jayaraman 等^[58]应用 CLSM 研究了好氧生物膜、荧光染色标记活/死细胞和多糖,并对其进行层扫,发现不同微生物的生物膜在不同深度下,其多糖所在面积比不同,而多糖有助于生物膜吸附在碳钢表面,进而使不同微生物对碳钢腐蚀的影响不尽相同。采用 CLSM 对混合微生物体系进行成膜能力分析,进而辨别其合作或竞争作用。铜绿假单胞菌和脱硫弧菌分别在培养基和 NaCl 溶液中培养,利用 CLSM 发现混合细菌下活细胞、多糖和蛋白质在铁表面的面积比例,其含量接近于 SRB 的分布,进而得出 SRB 为优势菌的结论^[59]。CLSM 可以通过荧光染色或荧光蛋白标记等手段,比较混合微生物体系与单菌体系中胞外分泌物、代谢产物等成分的变化,以及在生物膜中不同深度的成分变化。当然,CLSM 观察生物膜还有一些不完善的地方,由于腐蚀产物的不透光性,对于荧光的

完整性观察存在挑战,期待进一步观察到混合微生物体系的细胞亚结构和其功能活动的变化^[60]。



a 平面扫描



b 断层扫描

图 2 CLSM 观察混合体系生物膜中的细菌(蓝色)、蛋白质(绿色)和多糖(红色)

Fig.2 CLSM images of cells (blue), proteins (green) and polysaccharides (red) content in biofilms of mixed system: a) plane scanning; b) tomography

2.2.2 电化学技术

电化学技术在金属腐蚀中常用作微观分析技术。当金属电极置于自然或特定微生物环境中时,微生物吸附在电极表面,其生命活动及形成的不均匀的生物膜必定会对金属电极表面的电化学行为产生影响^[61]。在混合微生物体系下,可用电化学技术分析,从微观电流和电位的角度对混合微生物体系下的腐蚀作用机制和腐蚀动力学进行判断,研究不同微生物附着在金属电极表面之间的相互作用对金属腐蚀的影响。

极化曲线可用于表征微生物对腐蚀速率的影响和分析微生物对腐蚀中阴极和阳极反应的控制因素。Stern-Geary 公式^[62-63]给出了腐蚀电流 I_{corr} 和极化电阻 R_p 之间的对应关系:

$$I_{\text{corr}} = \frac{\beta_a \beta_c}{2.303(R_p)(\beta_a + \beta_c)} \quad (1)$$

式中, β_a 和 β_c 分别是阳极和阴极的 Tafel 斜率,极化电阻 R_p 与腐蚀速率成反比。阴极和阳极斜率的变化可表征混合微生物体系下,腐蚀发生的控制反应。研究再生水系统中,生物膜作用下的 Q235B 钢的电化学腐蚀特性^[64]发现,当含菌体系在 20 天时, β_a

远高于无菌体系的值。前 10 天时, IOB 和 SRB 的新陈代谢产物、死亡的菌体、腐蚀产物附着在金属基底, 腐蚀电位正移, 腐蚀电流降低, 导致腐蚀过程被抑制; 40 天时, 含菌培养体系中的 β_a 小于无菌体系的值。分析认为, 可能在 SRB 的作用下, 金属表面形成了致密性较差的腐蚀产物, 或者处于衰亡期的新陈代谢产物的致密性降低, 进而对金属表面阳极的阻隔作用减弱。

交流阻抗谱法是电化学判断金属表面附着变化的一种常用方法。在获得测试数据后, 可利用软件基于物理参数的基础, 搭建等效电路图进行量化分析。使用交流阻抗技术研究碳钢在 SRB 和 IRB 混合微生物培养基介质中的腐蚀行为表明^[65], 在混合体系下, SRB 加速腐蚀, 但生物膜电容和双电层电容均减小, 说明其导电性逐渐减弱, 结合由 SRB 生成的铁硫化物可能在 IRB 作用下, 生成了导电性弱的铁磷酸盐的结论, 分析得出混合体系抑制腐蚀的作用机制。

2.2.3 微电极技术

微电极是工作面大小为微米或纳米级的一类电极, 其微小尺寸能保证在实验过程中, 尽可能小地损害被测物体, 保证其微观下参数的变化^[66]。Bungay 等人^[67]首次将溶解氧微电极在水环境下用于生物膜的分析, 如测量微生物膜中溶解氧、pH、 H_2S 、 H_2 、氧化还原电位、硝酸氮、氧化亚氮等。微电极能够表征生物膜内外沿深度(与生物膜表面相垂直)方向的特征参数的梯度分布情况以及膜内部某深度上特征参数的变化情况, 同时还能够测量生物膜厚度。微电极的测试结果可获得两类参数: 膜-水界面的物质传输速率与膜内部的生化反应速率。这两类参数是推导生物膜模型和研究生物膜传质过程的重要参数。魏智刚等^[68]在研究 *E. coli* 和 *P. fluorescens* 混合接种 14 天时, 通过测量生物膜在碳钢表面的 pH 和溶解氧发现, *P. fluorescens* 生物膜的氧传递性更差, 导致腐蚀被抑制; *E. coli* 生物膜呈现酸性且对氧的阻隔性较差, 促进腐蚀; 而在混合体系下, 溶解氧和 pH 的特征更接近 *P. fluorescens*, 但因大肠杆菌的存在, 抑制腐蚀的效果不及 *P. fluorescens*。微电极技术虽然只能应用在实验室, 但其可在实验室中原位监测相应物化参数。

3 结论与展望

1) 无论是典型的腐蚀性微生物体系, 还是腐蚀环境下优势富集培养的混合微生物体系, 都应重点关注两种甚至多种微生物的相互作用对金属腐蚀进程产生的影响。然而, 当前对该领域的研究面临诸多的困难与挑战。第一, 实验室内无法实现环境中只存在两种或多种指定微生物的原位研究条件, 而搭建的实验环境又过于简单或有其他微生物的干扰。第二, 在腐蚀过程中, 微生物相互作用的监测技术或表征手段

比较宏观, 体系试验研究方法和相应的分析技术需要完善。第三, 混合微生物会对金属腐蚀与其单种微生物产生影响, 微生物间存在合作, 又彼此竞争, 在混合的环境中, 如何达到体系平衡以及如何改变单种条件下的腐蚀特性, 需要深入探索。当前, 对单种微生物的腐蚀机理和作用机制有了较多的研究和理论, 但对多种微生物下的腐蚀作用机制仍需要更多的研究。

2) 混合微生物体系的腐蚀研究是对自然环境下, 微生物群落腐蚀研究的一个阶段性研究, 对其仍然需要大量的研究和深入的解释。未来的研究可以从混合微生物培养过程中的生长特性和代谢产物较单种微生物的变化两方面开展, 结合腐蚀环境下的现象进行分析, 探究是微生物自身的影响, 还是代谢产物对腐蚀产生的影响。也可以利用荧光标记技术观察混合体系下, 微生物生长和基因表达的差异, 分析其调控过程, 从细胞和分子水平上揭示混合微生物体系的腐蚀机理和作用机制。

参考文献:

- [1] BASHEER R, GANGA G, CHANDRAN R K, et al. Effect of W-TiO₂ composite to control microbiologically influenced corrosion on galvanized steel[J]. Applied microbiology & biotechnology, 2013, 97(12): 5615-5625.
- [2] CASTANEDA H, BENETTON X D. SRB-biofilm influence in active corrosion sites formed at the steel-electrolyte interface when exposed to artificial seawater conditions[J]. Corrosion science, 2008, 50(4): 1169-1183.
- [3] LI X, ZHANG D, LIU Z, et al. Materials science: Share corrosion data[J]. Nature, 2015, 527(7579): 441-442.
- [4] INTERNATIONAL N. Corrosion costs and preventive strategies in the United States[J]. Journal of endocrinology, 2002, 122(1): 23-31.
- [5] 肖伟龙. 热带海洋气候下海水中的微生物腐蚀过程对碳钢力学性能的影响[D]. 海口: 海南大学, 2011.
XIAO Wei-long. Effect of microbial corrosion process on the mechanical process on the mechanical properties of carbon steel in tropical seawater condtion[D]. Hankou: Hainan University, 2011.
- [6] WOLZOGEN K C, VLUGT I. The graphitization of cast iron as an electrochemical process in anaerobic solid[J]. Water, 1934, 18: 147-165.
- [7] 黄烨, 刘双江, 姜成英. 微生物腐蚀及腐蚀机理研究进展[J]. 微生物学通报, 2017, 44(7): 1699-1713.
HUANG Ye, LIU Shuang-jiang, JIANG Cheng-ying. Microbiologically influenced corrosion and mechanisms[J]. Microbiology China, 2017, 44(7): 1699-1713.
- [8] MCNEILL L S, EDWARDS M. Iron pipe corrosion in distribution systems[J]. Journal of American water works, 2001, 93(7): 88-100.
- [9] LI H, ZHOU E, REN Y, et al. Investigation of microbiologically influenced corrosion of high nitrogen nickel-free

- stainless steel by *pseudomonas aeruginosa*[J]. Corrosion science, 2016, 111: 811-821.
- [10] 孙晓洁, 高春辉, 黄巧云, 等. 自然环境中的多物种生物膜: 研究方法及其社群相互作用[J]. 农业资源与环境学报, 2017, 34(1): 6-14.
- SUN Xiao-jie, GAO Chun-hui, HUANG Qiao-yun, et al. Multispecies biofilms in natural environments: An overview of research methods and bacterial social interactions[J]. Journal of agricultural resources and environment, 2017, 34(1): 6-14.
- [11] XU C, ZHANG Y, CHENG G, et al. Pitting corrosion behavior of 316L stainless steel in the media of sulphate-reducing and iron-oxidizing bacteria[J]. Materials characterization, 2008, 59(3): 245-255.
- [12] XU Da-ke, ZHOU En-ze, ZHAO Ying, et al. Enhanced resistance of 2205 Cu-bearing duplex stainless steel towards microbiologically influenced corrosion by marine aerobic *Pseudomonas aeruginosa* biofilms[J]. Journal of materials science & technology, 2018, 34(8): 1325-1336.
- [13] WU J, ZHANG D, WANG P, et al. The influence of *desulfovibrio sp* and *pseudoalteromonas sp* on the corrosion of Q235 carbon steel in natural seawater[J]. Corrosion science, 2016, 112: 552-562.
- [14] BERMONTBOUIS D, JANVIER M, GRIMONT P A, et al. Both sulfate-reducing bacteria and *enterobacteriaceae* take part in marine biocorrosion of carbon steel[J]. Journal of applied microbiology, 2007, 102(1): 161-168.
- [15] JACK R F, RINGELBERG D B, WHITE D C. Differential corrosion rates of carbon steel by combinations of *bacillus, sp. hafnia alvei*, and *desulfovibrio gigas*, established by phospholipid analysis of electrode biofilm[J]. Corrosion science, 1992, 33(12): 1843-1853.
- [16] 李松梅, 张媛媛, 白如冰, 等. A3 钢在链霉菌和诺卡氏菌共同作用下的腐蚀行为[J]. 物理化学学报, 2009, 25(5): 921-927.
- LI Song-mei, ZHANG Yuan-yuan, BAI Ru-bing, et al. Corrosion behavior of steel A3 under the combined effect of *streptomyces* and *nocardia sp*[J]. Acta physico-chimica sinica, 2009, 25(5): 921-927.
- [17] 陈菊娜, 吴佳佳, 王鹏, 等. 脱硫弧菌和溶藻弧菌对船体结构材料 907 钢海水腐蚀行为的影响研究[J]. 中国腐蚀与防护学报, 2017, 37(5): 402-410.
- CHEN Ju-na, WU Jia-jia, WANG Peng, et al. Effect of *desulfovibrio sp* and *vibrio alginolyticus* on corrosion behavior of 907 steel in seawater[J]. Journal of Chinese society for corrosion and protection, 2017, 37(5): 402-410.
- [18] 魏仁超, 许凤玲, 蔺存国, 等. 远青弧菌、硫酸盐还原菌及其混合菌种作用下 B10 合金的海水腐蚀行为[J]. 金属学报, 2014(12): 1461-1470.
- WEI Ren-chao, XU Feng-ling, LIN Cun-guo, et al. Corrosion behavior of B10 alloy exposed to seawater containing *vibrio azureus*, sulfate-reducing bacteria, and their mixture[J]. Acta metallurgica sinica, 2014(12): 1461-1470.
- [19] 段冶, 李松梅, 杜娟, 等. Q235 钢在假单胞菌和铁细菌混合作用下的腐蚀行为[J]. 物理化学学报, 2010, 26(12): 3203-3211.
- DUAN Ye, LI Song-mei, DU Juan, et al. Corrosion behavior of Q235 steel in the presence of *pseudomonas* and iron bacteria[J]. Acta physico-chimica sinica, 2010, 26(12): 3203-3211.
- [20] LIU H, FU C, GU T, et al. Corrosion behavior of carbon steel in the presence of sulfate reducing bacteria and iron oxidizing bacteria cultured in oilfield produced water[J]. Corrosion science, 2015, 100: 484-495.
- [21] 宗月, 谢飞, 吴明, 等. 硫酸盐还原菌腐蚀影响因素及防腐技术的研究进展[J]. 表面技术, 2016, 45(3): 24-30.
- ZONG Yue, XIE Fei, WU Ming, et al. Research progress in influencing factors of corrosion by sulfate-reducing bacteria and corresponding antiseptic techniques[J]. Surface technology, 2016, 45(3): 24-30.
- [22] 郭军科, 黄美慧, 马有良. 硫酸盐还原菌和异养硝化菌对 304 不锈钢腐蚀研究[J]. 工业水处理, 2016, 36(12): 70-72.
- GUO Jun-ke, HUANG Mei-hui, MA You-liang. Research on the action of sulfate reducing bacteria and heterotrophic nitrification bacteria on the corrosion of 304 stainless steel[J]. Industrial water treatment, 2016, 36(12): 70-72.
- [23] USHER K M, KAKSONEN A H, MACLEOD I D. Marine rust tubercles harbour iron corroding archaea and sulphate reducing bacteria[J]. Corrosion science, 2014, 83(83): 189-197.
- [24] STAROSETSKY D, ARMON R, YAHALOM J, et al. Pitting corrosion of carbon steel caused by iron bacteria[J]. International biodeterioration & biodegradation, 2001, 47(2): 79-87.
- [25] KE R. Synergistic effect of iron bacteria and vibrio on carbon steel corrosion in seawater[J]. International journal of electrochemical science, 2016, 11(9): 7461-7474.
- [26] 柯睿, 吴进怡, 柴柯, 等. 热带海洋气候下海水中氧化硫杆菌和假单胞菌协同作用对 45 钢腐蚀行为的影响[J]. 腐蚀科学与防护技术, 2014(5): 393-400.
- KE Rui, WU Jin-yi, CHAI Ke, et al. Synergistic effect of thiobacillus thiooxidans and *pseudomonas sp.* on corrosion of 45 steel in tropic seawater condition[J]. Corrosion science and protection technology, 2014(5): 393-400.
- [27] 罗琦. 热带海洋气候下海水环境中弧菌及假单胞菌对 45 钢电化学腐蚀行为的影响[D]. 海口: 海南大学, 2013.
- LUO Qi. Effect of vibrio and *pseudomonas* on the electrochemical corrosion behavior of S45C steel in seawater in tropical marine climate[D]. Haikou: Hainan University, 2013.
- [28] RAJASEKAR A, TING Y P. Role of inorganic and organic medium in the corrosion behavior of bacillus megaterium and *pseudomonas sp.* in stainless steel SS304[J]. Industrial & engineering chemistry research, 2011, 50(22): 12534-12541.
- [29] WADOOD H Z, RAJASEKAR A, TING Y P, et al. Role

- of bacillus subtilis, and *pseudomonas aeruginosa*, on corrosion behaviour of stainless steel[J]. Arabian journal for science and engineering, 2015, 40(7): 1825-1836.
- [30] GU T. New understandings of biocorrosion mechanisms and their classifications[J]. Journal of microbial & biochemical technology, 2012, 4(4): 3-6.
- [31] KING R. Study on mechanism of microbiology corrosion[J]. Nature, 1971, 233(5): 491-492.
- [32] STARKEY R L. The general physiology of the sulfate-reducing bacteria in relation to corrosion[J]. Producers monthly, 1958, 22(2): 25-43.
- [33] KING R, MILLER J, SMITH J. Corrosion of mild steel by iron sulphides[J]. British corrosion journal, 1973, 8(3): 137-141.
- [34] LEE W, CHARACKLIS W G. Corrosion of mild steel under anaerobic biofilm[J]. Corrosion, 1993, 49(3): 186-199.
- [35] DAVID S, ROBERT A, JOSEF Y, et al. Pitting corrosion of carbon steel caused by iron bacteria[J]. International biodeterioration and biodegradation, 2001, 47: 79-87.
- [36] BRENDA L, PATRIAIC W. Myths related to microbiologically influenced corrosion[J]. Mater perform, 1997, 36(6): 40-44.
- [37] 夏进, 徐大可, 南黎, 等. 从生物能量学和生物电化学角度研究金属微生物腐蚀的机理[J]. 材料研究学报, 2016, 30(3): 161-170.
- XIA J, XU D, NAN L, et al. Study on mechanisms of microbiologically influenced corrosion of metal from the perspective of bioelectrochemistry and bio-energetics[J]. Chinese journal of materials research, 2016, 30(3): 161-170.
- [38] LI Y, XU D, CHEN C, et al. Anaerobic microbiologically influenced corrosion mechanisms interpreted using bioenergetics and bioelectrochemistry: A review[J]. Journal of materials science & technology, 2018, 34(10): 1713-1718.
- [39] SHERAR B W A, POWER I M, KEECH P G, et al. Characterizing the effect of carbon steel exposure in sulfide containing solutions to microbially induced corrosion[J]. Corrosion science, 2011, 53(3): 955-960.
- [40] ZHANG P, XU D, LI Y, et al. Electron mediators accelerate the microbiologically influenced corrosion of 304 stainless steel by the desulfovibrio vulgaris, biofilm[J]. Bioelectrochemistry, 2015, 101: 14-21.
- [41] 史显波, 徐大可, 闫茂成, 等. 新型含 Cu 管线钢的微生物腐蚀行为研究[J]. 金属学报, 2017, 53(2): 153-162.
- SHI Xian-bo, XU Da-ke, YAN Mao-cheng, et al. Study on microbiologically influenced corrosion behavior of novel Cu-bearing pipeline steels[J]. Acta metallurgica sinica, 2017, 53(2): 153-162.
- [42] 管方, 翟晓凡, 段继周, 等. 阴极极化对硫酸盐还原菌腐蚀影响的研究进展[J]. 中国腐蚀与防护学报, 2018, 38(1): 1-9.
- GUAN Fang, ZHAI Xiao-fan, DUAN Ji-zhou, et al. Progress on influence of cathodic polarization on sulfatereducing bacteria induced corrosion[J]. Journal of Chinese society for corrosion and protection, 2018, 38(1): 1-9.
- [43] FAUST K, RASE J. Microbial interactions: from networks to models[J]. Nature reviews microbiology, 2012, 10(8): 538-550.
- [44] ZUPANCIC J, RAGHUPATHI P K, HOUF K, et al. Synergistic interactions in microbial biofilms facilitate the establishment of opportunistic pathogenic fungi in household dishwashers[J]. Frontiers in microbiology, 2018, 9: 1-13.
- [45] RODER H L, RAGHUPATHI P K, HERSCHEND J, et al. Interspecies interactions result in enhanced biofilm formation by co-cultures of bacteria isolated from a food processing environment.[J]. Food microbiology, 2015, 51: 18-24.
- [46] MATTEI M R, FRUNZO L, D'ACUNTO B, et al. Continuum and discrete approach in modeling biofilm development and structure: a review[J]. Journal of mathematical biology, 2017, 76(4): 945-1003.
- [47] MADSEN J S, RDER H L, RUSSEL J, et al. Coexistence facilitates interspecific biofilm formation in complex microbial communities[J]. Environmental microbiology, 2016, 18(8): 2565-2574.
- [48] 彭力. 再生水模拟管网中微生物群落结构特征及其腐蚀相关性研究[D]. 北京: 北京建筑大学, 2016.
- PENG Li. Research of structure characteristics and corrosion property of microbial communities in a simulated reclaimed water distribution system[D]. Beijing: Beijing University of Civil Engineering and Architecture, 2016.
- [49] 刘海霞. 内锈层微生物对碳钢腐蚀行为的影响研究[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2016.
- LIU Hai-xia. The influence on corrosion behavior of carbon steel by bacteria isolated from inner rust layer[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Science, 2016.
- [50] 杜娟, 李松梅, 刘建华, 等. 氧化硫杆菌和芽孢杆菌协作下 Q235 钢腐蚀行为[J]. 北京航空航天大学学报, 2014, 40(1): 31-38.
- DU Juan, LI Song-mei, LIU Jian-hua, et al. Corrosion behavior of steel Q235 co-influenced by *thiobacillus thiooxidans* and *bacillus*[J]. Journal of Beijing University of Aeronautics and Astronautics, 2014, 40(1): 31-38.
- [51] LIU H, ZHENG B, XU D, et al. Effect of sulfate-reducing bacteria and iron-oxidizing bacteria on the rate of corrosion of an aluminum alloy in a central air-conditioning cooling water system[J]. Industrial & engineering chemistry research, 2014, 53(19): 7840-7846.
- [52] LAWRENCE J R, KORBER D R, HOYLE B D, et al. Optical sectioning of microbial biofilms[J]. Journal of bacteriology, 1991, 173: 6558-6567.
- [53] STOODLEY P, BOYLE J D, DEBEER D, et al. Evolving perspectives of biofilm structure[J]. Biofouling, 1999, 14: 75-90.
- [54] 王荣昌, 文湘华, 钱易. 激光扫描共聚焦显微镜用于生物膜研究[J]. 中国给水排水, 2003, 19(12): 23-25.
- WANG Rong-chang, WEN Xiang-hua, QIAN Yi. Appli-

- cation of laser scanning confocal microscope in the study of biofilm[J]. China water wastewater, 2003, 19(12): 23-25.
- [55] BLANC V, ISABAL S, SÁNCHEZ M C, et al. Characterization and application of a flow system for in vitro multispecies oral biofilm formation[J]. Journal of pineal research, 2014, 49: 323-332.
- [56] HALAN B, BUEHLER K, SCHMID A. Biofilms as living catalysts in continuous chemical syntheses[J]. Trends biotechnol, 2012, 30: 453-465.
- [57] SUN Z, MORADI M, CHEN Y, et al. Simulation of the marine environment using bioreactor for investigation of 2507 duplex stainless steel corrosion in the presence of marine isolated bacillus vietnamensis, bacterium[J]. Materials chemistry & physics, 2018, 208: 149-156.
- [58] JAYARAMAN A, EARTHMAN J C, WOOD T K. Corrosion inhibition by aerobic biofilms on SAE 1018 steel[J]. Applied microbiology and biotechnology, 1997, 47: 62-68.
- [59] BATMANGHELICH F, LI L, SEO Y. Influence of multispecies biofilms of *pseudomonas aeruginosa*, and *desulfovibrio vulgaris*, on the corrosion of cast iron[J]. Corrosion science, 2017, 121: 94-104.
- [60] MÜLLER S, BLEY T. High Resolution microbial single cell analytics: Advances in biochemical engineering/biotechnology[M]. Berlin heidelberg: Springer, 2011: 21-25.
- [61] KIM T, KANG J. Influence of attached bacteria and biofilm on double-layer capacitance during biofilm monitoring by electrochemical impedance spectroscopy[J]. Water research, 2011, 45(15): 4615-4622.
- [62] STERN M. The mechanism of passivating-type inhibitors[J]. Journal of the electrochemical society, 1958, 105(11): 638-647.
- [63] HAYCOCK E W. Discussion of “electrochemical polarization, 1. A theoretical analysis of the shape of polarization curves”[J]. Journal of the electrochemical society, 1957, 104(12): 751-752.
- [64] 张海亚, 田一梅, 陈灏琳, 等. 再生水生物膜作用下 Q235B 钢的电化学腐蚀特性研究[J]. 腐蚀科学与防护技术, 2018, 30(1): 27-34.
- ZHANG H Y, TIAN Y M, CHEN H L, et al. Electrochemical corrosion behavior of q235B carbon steel induced by iron-oxidizing bacteria and sulfate reducing bacteria biofilm in reclaimed water[J]. Corrosion science and protection technology, 2018, 30(1): 27-34.
- [65] 武素茹, 段继周, 杜敏, 等. 硫酸盐还原细菌和铁还原细菌混合生物膜对碳钢腐蚀的影响[J]. 材料开发与应用, 2008, 23(3): 53-56.
- WU Su-rui, DUAN Ji-zhou, DU Min, et al. Corrosion of carbon steel influenced by SRB and IRB anaerobic biofilm[J]. Development and application of materials, 2008, 23(3): 53-56.
- [66] 周小红, 施汉昌, 蔡强. 基于微电极的生物膜分析技术的研究进展[J]. 环境监测管理与技术, 2006, 18(1): 32-35.
- ZHOU Xiao-hong, SHI Han-chang, CAI Qiang. Study process on micro-profiles of biofilm determined by microelectrodes[J]. The administration and technique of environmental monitoring, 2006, 18(1): 32-35.
- [67] BUNGAY H R, WHALEN W J, SANDERS W M. Microprobe techniques for determining diffusivities and respiration rates in microbial slime systems[J]. Biotechnology and bioengineering, 1969, 11: 765-772.
- [68] 魏智刚. 混合细菌下对碳钢腐蚀行为及作用机制研究[D]. 北京: 北京建筑大学, 2017.
- WEI Zhi-gang. Corrosion behavior and mechanism of carbon steel under mixed bacteria[D]. Beijing: Beijing University of Civil Engineering and Architecture, 2017.