

硫酸盐还原菌对热镀锌钢材氢渗透行为的影响

张玉志^{1,2}, 张大磊^{1,2}, 李焰¹

(1. 中国科学院海洋研究所, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要:采用 Devanathan-Stachurski 双面电解池检测氢渗透电流技术和扫描电镜分析, 研究了热镀锌钢材在灭菌海水、灭菌培养基和接种了硫酸盐还原菌(SRB)的培养基等 3 种介质中的氢渗透行为。氢渗透电流检测结果表明, 培养基的部分组分对热镀锌钢材的氢渗透行为有促进作用, 试样在灭菌培养基中的氢渗透电流密度的平均值比在灭菌海水中提高了约 6 倍。尽管活性 SRB 代谢产生的 S²⁻和 HS⁻能够促进热镀锌钢材的氢渗透行为, 但是, 由 SRB 及其代谢产物和它们所黏附的腐蚀产物所形成的致密微生物膜减少了氢的析出和试样对氢的吸收量, 导致热镀锌钢材氢渗透行为最终被抑制, 因此, 试样在接菌培养基中的氢渗透电流密度的平均值比其在灭菌培养基中降低 77%。扫描电镜分析表明, 热镀锌钢材在灭菌海水中能够形成腐蚀产物膜, 而暴露于灭菌培养基中的试样表面未形成明显的腐蚀产物膜, 但在接菌培养基中试样表面能形成黏附了腐蚀产物的致密微生物膜的附着, 表明热镀锌钢材表面的微生物膜与其氢渗透行为之间存在明显相关性。

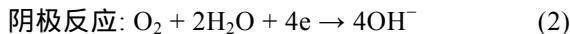
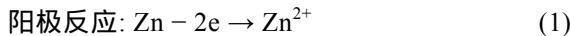
关键词:硫酸盐还原菌; 氢渗透; 镀锌层; 阴极保护

中图分类号: TG172.2; TG172.5

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2011)01-0048-06

热镀锌钢材在海洋环境中有着广泛的应用, 如海底通信电缆、电力光缆的铠装护层和加强芯, 跨海和近海悬索大桥的斜拉索使用的钢丝和钢绞线等^[1]。一方面, 镀锌层对钢材基体和环境介质之间的隔离作用对钢材基体的腐蚀起到了很好的防护作用; 另一方面, 在镀层发生破损或因腐蚀而暴露出钢材基体时, 钢材基体与周围的镀锌层构成一个电偶对, 镀锌层能够作为牺牲阳极对钢材基体提供保护, 此时热镀锌钢材在海水中的腐蚀反应为^[2]:



阴极反应产生的氢将有一部分渗透进入钢材基体^[3], 给钢结构的安全带来隐患。因此, 研究热镀锌钢材在海水中的氢渗透问题是十分必要的。

硫酸盐还原菌(SRB)在自然环境中是广泛存在的, 大量的研究证明, SRB 的生长及代谢活动对裸钢的腐蚀与氢渗透行为有着重要的影响^[4-11], 而对有镀锌层保护的钢材而言, SRB 对其腐蚀与氢渗透行为的影响如何, 目前尚不十分清楚。因此, 本文采用改进的 D-S 双面电解池研究了热镀锌钢材在灭菌海水、灭菌培养基和接种 SRB 的培养基等 3 种介质中的氢渗透行为。

1 材料与实验方法

1.1 材料及试样制备

市售 1.5 mm 厚热浸镀锌钢板样品(镀层厚度 10~15 μm), 经线切割获得直径 2.0 cm 的圆片形氢渗透试样。试样其中一侧保持镀层完好, 另一侧则将镀层去除并用金相砂纸磨光至 600#, 经去离子水和丙酮进行超声清洗、冷风吹干备用。

1.2 SRB 菌种及培养和计数

实验所用 SRB 来源于渤海湾海泥, 并经 SRB 专性培养基培养, 定期更换培养基以保持 SRB 活性。本文所用 SRB 的培养基成分如下: 0.50 g K₂HPO₄ · 3H₂O, 1.00 g NH₄Cl, 0.50 g Na₂SO₄, 0.10 g CaCl₂, 2.00 g MgSO₄, 3.50 g 乳酸钠, 1.00 g 酵母膏。将上述试剂溶解在 1L 陈海水中, 于 121 灭菌 20 min。在培养基使用的当天, 称取 0.50 g Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ · 7H₂O 和 0.10 g 抗坏血酸, 在洁净工作台上均匀摊开, 紫外灭菌 30min, 然后加入到上述

收稿日期: 2009-10-12; 修回日期: 2009-12-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(40576038), 山东省自然科学基金项目(Y2008E09)

作者简介: 张玉志(1983-), 男, 河南南阳人, 硕士, 主要从事海洋腐蚀与防护研究; 李焰, 通信作者, 电话: 0532-82898832, E-mail: yanlee@ms.qdio.ac.cn

培养基溶液中。使用 MPN 法进行 SRB 的计数, 以测定 SRB 在培养基中的生长曲线。

1.3 腐蚀形貌观察

使用面积为 $2.0\text{ cm} \times 2.0\text{ cm}$ 的正方形试样分别浸入灭菌海水、灭菌培养基和接种 SRB 的培养基等 3 种腐蚀介质中, 7d 后取出。对于在前两种介质中浸泡的试样, 分别使用蒸馏水、乙醇和丙酮进行清洗, 晾干后进行腐蚀形貌观察; 对于在接种 SRB 的培养基中浸泡的试样, 使用乙醇分级提取, 经 2.5% 戊二醛液固定、表面喷金处理后进行微观形貌观察。SEM 为 KYKY-2800 型扫描电镜, 加速电压为 20 kV。

1.4 氢渗透电流检测

将上述氢渗透试样安装在改进的 Devanathan-Stachurski 双面电解池(图 1)上, 于检测室中对无镀层一侧工作面进行镀镍处理, 镀液为瓦特浴(硫酸镍, 300 g/L; 氯化镍, 60 g/L; 硼酸, 37.5 g/L; pH 3.0), 在电流密度 0.90 mA/cm² 下电镀 5 min; 随后将镀液更换为 0.20 mol/L NaOH 溶液, 在+200 mV(相对于汞-氧化汞电极)下将镀镍层钝化至背景电流小于 0.20 μA/cm², 然后在腐蚀充氢室中加入腐蚀介质, 进行氢渗透电流检测。

腐蚀介质为灭菌海水或培养基时, 电解池的腐蚀充氢室加入的是 500 mL 经氮气除氧 1 h 后的腐蚀介质, 另需加入紫外灭菌 30 min 的润滑油 20 mL 进行覆盖, 并用锡箔纸对整个装置进行密封, 以避免引入空气。腐蚀介质为接种 SRB 的培养基时, 先在电解池的腐蚀充氢室内加入 495 mL 灭菌培养基, 而后用无菌注射器加注 5 mL SRB 菌种溶液, 并进行如前所述的油封和密封操作。

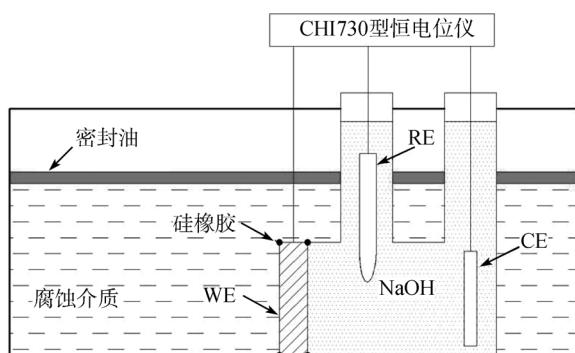


图 1 氢渗透电流检测试验装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of equipment for hydrogen permeation current measurement

2 实验结果

2.1 SRB 的生长曲线

图 2 为 SRB 在实验所用培养基中的生长曲线。可以看出, SRB 的生长过程可以分为三个阶段。第 1 阶段(0~4 d)为指数生长期, 由于此阶段的培养基中营养丰富, SRB 数量呈几何级数增加; 第 2 阶段(4~6 d)为稳定期, 细菌在这一阶段的生长和死亡数量大致相当, SRB 数量在同一数量级上变化; 第 3 阶段(第 7 天起)为衰亡期, 由于培养基大量消耗, SRB 死亡数量远多于新生数量, 进入快速衰亡阶段。此结果与 Kuang 等^[12]获得的 SRB 生长曲线变化规律相同。

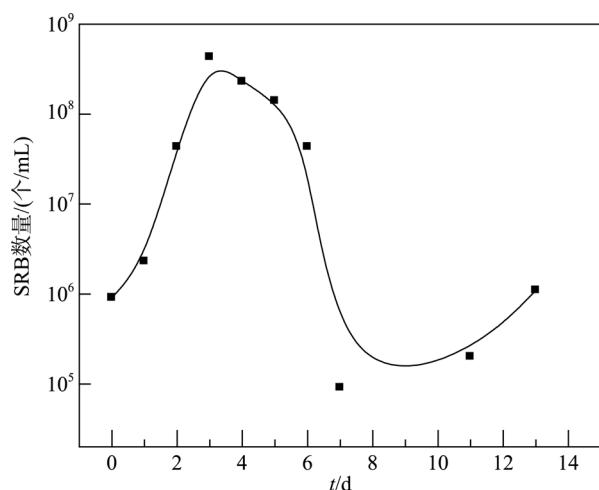


图 2 SRB 生长曲线

Fig. 2 SRB growing process in the culture medium

2.2 热镀锌钢材在腐蚀介质中的氢渗透曲线

图 3 是热镀锌钢材分别在 3 种腐蚀介质中的氢渗透曲线。在灭菌海水和灭菌培养基中, 热镀锌钢材的渗氢曲线都经历了增大—减小—增大的过程。在灭菌海水中, 第 8 天之前, 渗氢电流密度均在 50 μA/cm² 以下, 而在灭菌培养基中, 从第 2 天开始, 渗氢电流密度均在 150 μA/cm² 以上。在接菌培养基中, 试样的渗氢曲线与前 2 种介质中的规律不同: 渗氢电流密度刚开始时随时间逐渐增长, 从第 3 天起至第 6 天则处于相对稳定阶段, 然后逐渐下降, 第 7 天后又处于相对稳定阶段。

2.3 热镀锌钢材在腐蚀介质中的表面微观形貌

图 4 所示为热镀锌钢材在 3 种腐蚀介质中浸泡

7d 后的表面形貌。试样在灭菌海水中因腐蚀生成的腐蚀产物较为致密、牢固地附着在试样的表面，形成了较完整的腐蚀产物膜(图 4(a)); 在灭菌培养基中试样表面没有形成明显的腐蚀产物膜，局部腐蚀较严重(图 4(b)); 而在接菌培养基中，除形成腐蚀产物外，试样表面还分布着活性 SRB 及其代谢产物，即形成了微生物膜(图 4(c))。

3 讨论

3.1 培养基组分对热镀锌钢材氢渗透的影响

由图 3 可知，在本文的测试时间内，热镀锌钢材在灭菌海水和灭菌培养基中的平均氢渗透电流密度分别为 $39.7 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ 和 $288.5 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ，后者比前者高出 627%。由图 4 中的腐蚀形貌可知，在灭菌海水中试样表面可形成保护性的腐蚀产物膜，从而通过抑制其腐蚀而减少氢的析出和吸收。而在灭菌培养基中，作为指示剂加入的 Fe^{2+} 能够促使锌-铁置换反应的发生，由于增加了有效阴极的数量，使镀锌层的腐蚀加速；较高的 Cl^- 浓度，也能促进腐蚀反应向阳极溶解方向移动^[13]；作为抗氧化剂加入的抗坏血酸能够使溶液的 pH 向酸性方向移动，也可导致试样腐

蚀速度增大。这些因素中应以 Fe^{2+} 的影响最为严重。试样的腐蚀速度增大，不仅使得阴极反应产生的氢原子增多，增加氢的析出量，而且使热镀锌钢材试样表面的镀层更容易形成局部缺陷，而存在镀层缺陷的热镀锌钢材试样显然比镀层完好时的试样具有更大的渗氢电流密度^[3]。

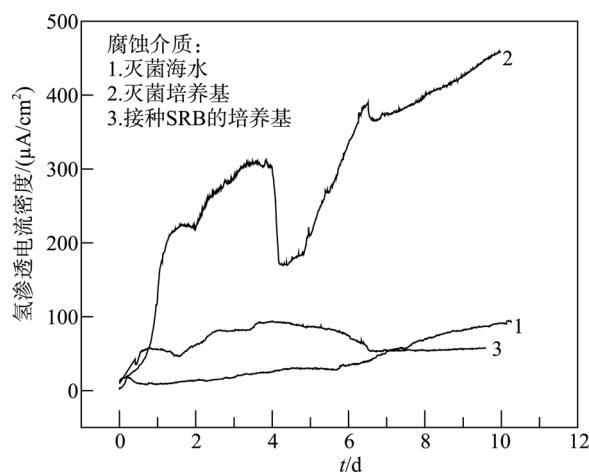


图 3 热镀锌钢材在灭菌海水、灭菌培养基和接种培养基中的氢渗透电流密度变化曲线

Fig. 3 Hydrogen permeation current density curves for hot-dip galvanized steel in sterilized seawater, sterilized midium and medium inoculated with SRB

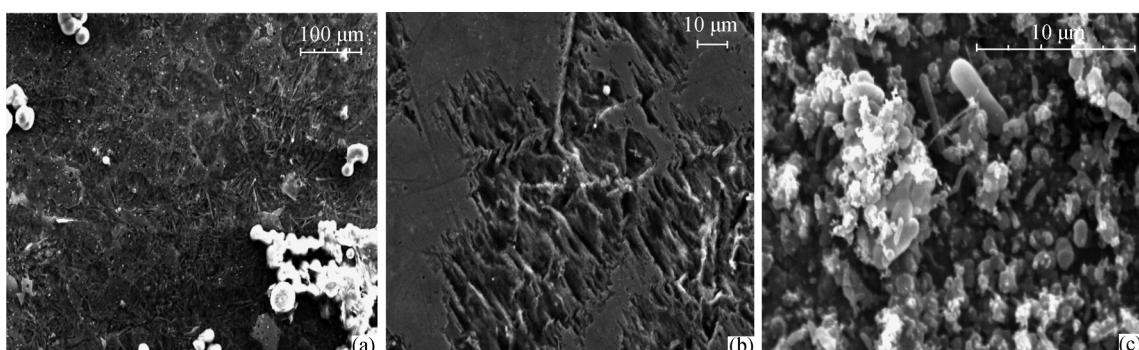


图 4 热镀锌钢材在腐蚀介质中浸泡 7 天后的形貌

(a) 灭菌海水; (b) 灭菌培养基; (c) 接菌培养基

Fig. 4 SEM images of hot-dip galvanized steel immersed in sterilized seawate(a), sterilized medium(b) and medium inoculated with SRB(c) for 7d

刘猛等^[3]的研究表明，当热镀锌钢材存在一定比例的镀层缺陷时，它在海水中自腐蚀时的氢渗透电流密度会达到一个阶段性的极大值。本文实验结果表明，在密闭体系下获得的热浸镀锌钢在灭菌海水和灭菌培养基中也存在类似的规律，而氢渗透电流密度阶段极大值出现的时间，即特定的镀层-缺陷面积比出现的时间，与腐蚀介质的物理、化学性质有

关。

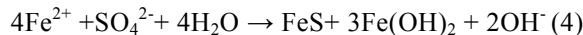
3.2 SRB 对热镀锌钢材氢渗透行为的影响

镀层完整的试样在灭菌培养基中的氢渗透电流密度在检测过程中绝大多数时间内比其在接菌培养基中的氢渗透电流密度大(图 3)。从第 2 天开始，试样在灭菌培养基中的渗氢电流密度比在接菌培养基

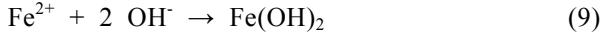
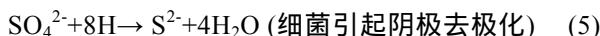
中的渗氢电流密度大 2~8 倍; 在本文的测试时间内, 灭菌培养基中的平均氢渗透电流密度为 $288.5 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, 而在接菌培养基中的平均氢渗透电流密度为 $65.9 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, 后者比前者低 77%, 表明 SRB 及其代谢产物和它们黏附的腐蚀产物所形成的微生物膜(图 4)抑制了试样的氢渗透行为。

在微生物腐蚀研究领域, 不少科学家曾研究了 SRB 对不同种类钢材氢渗透行为的影响。朱永艳等^[5-6]研究了 16Mn 钢和 API X56 管线钢在海泥中的氢渗透行为, 结果表明, SRB 的存在能够极大促进钢材在海泥中的氢渗透行为。Javaherdashtia 等^[14]的慢应变速率拉伸实验同样表明, SRB 对碳钢在 3.5%NaCl 溶液(模拟海水环境)中的氢致开裂有较大促进作用。Vigdorovich 等^[7]证实, St3 钢片在含有 6 mmol/LH₂S 的接种 SRB 的培养基中的氢扩散电流比在灭菌培养基条件下增加 1 倍以上。这些研究均表明, 在所述钢材试样和设定的实验条件下, SRB 对裸钢试样的氢渗透行为起促进作用。而本文的研究结果表明, 对于表面带有阳极性镀层的热镀锌钢材而言, SRB 能够在较长的时间范围内(10 d)抑制氢的进入。

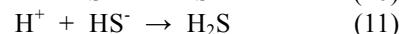
尽管对微生物引起的钢铁腐蚀目前已研究较多, 也提出了不少腐蚀机理, 但得到广泛认可的仍为 KüHr 等^[15]提出的阴极去极化理论, 整个腐蚀反应为:



对于热镀锌钢材试样, 在腐蚀初期以表面镀锌层腐蚀为主; 在腐蚀后期当镀层破损、暴露出钢材基体后, 发生锌-铁电偶对的电偶腐蚀, 故热镀锌钢材在除氧、含 SRB 的环境中发生腐蚀时, 除锌表面发生的式(1)和钢材表面发生的式(3)之外还会发生以下反应:



所以, 腐蚀产物中除了式(4)中的 FeS、Fe(OH)₂ 外, 还有 ZnS、Zn(OH)₂ 等。另外, 在此过程中有两个重要反应也不可忽略:



在以上腐蚀反应过程中产生的 H₂S、HS⁻ 以及 S²⁻ 均能对氢渗透行为起促进作用^[6], 而它们的数量与活性 SRB 的数量密切相关。因此, 图 3 所示试样在

接菌培养基中的渗氢电流密度的经时变化与图 2 所示 SRB 的生长曲线有着很好的依存性。在活性 SRB 数量较多的 4~6 d, 试样的渗氢电流密度也较大, 并且变化相对稳定。从第 7 天起, SRB 进入衰亡期, 活性 SRB 急剧减少, 新产生的 H₂S、HS⁻ 以及 S²⁻ 大幅减少, 而原有的 H₂S、HS⁻ 以及 S²⁻ 大部分已经和 Zn²⁺ 和 Fe²⁺ 形成腐蚀产物, 所以试样的渗氢电流密度变小, 处于另外一个稳定期。

在氢渗透电流检测实验结束后, 可观察到试样在灭菌培养基中形成的腐蚀产物较疏松且极易脱落; 而在接菌培养基中, 试样表面形成的微生物膜致密、附着牢固。如图 4 所示, 试样表面的微生物膜由镀层腐蚀产物和微生物及其代谢产物组成, 这层膜的存在不仅能够阻碍腐蚀反应的进一步进行, 减少氢的析出, 而且能够在 SRB 引起的阴极去极化过程中大量消耗氢原子, 从而减少已析出并吸附在暴露的钢材表面的氢进入钢材基体。所以, 相对于灭菌培养基, 试样在接菌培养基中的渗氢电流密度大幅降低。而在氢渗透电流检测的开始阶段, 由于仅形成少量菌膜, 对试样的氢渗透行为无明显的抑制作用, 因此热镀锌钢材在灭菌培养基中的氢渗透电流较在接菌培养基中的氢渗透电流略小。总之, 虽然促进和抑制热镀锌钢材的氢渗透过程的因素都存在, 但是在相当长的时间内, 活性 SRB 及其代谢产物对氢渗透的抑制作用占主导地位。

由于研究 SRB 对热镀锌钢材在海水中氢渗透行为的影响需要一个较长的测试周期, 但为了保证 SRB 在较长时间内维持一定活性, 需要在海水中加入适量的营养盐, 而本文的研究结果表明, 营养盐的加入可通过促进试样的腐蚀对其氢渗透行为产生干扰, 因为镀层完整的热镀锌钢材在海水腐蚀初期的氢渗透电流密度相对较小。因此, 为进一步深入研究这一问题, 建议在热镀锌钢材试样上预制一定比例的镀层缺陷, 使其在海水腐蚀初期即可产生较大的氢渗透电流, 然后在海水中分别加入适量具有不同菌龄 SRB 的菌液, 再考察活性 SRB 的数量对热镀锌钢材在海水中氢渗透行为的影响, 即可排除培养基中的营养盐对试样氢渗透行为的干扰。

3 结论

尽管活性 SRB 本身能够促进热镀锌钢材的氢渗透, 但 SRB 及其代谢产物和它们黏附的腐蚀产物形成的微生物膜阻碍了热镀锌钢材的进一步腐蚀, 降

低了氢的析出量，并在 SRB 引起的阴极去极化过程中大量消耗氢原子而减少氢的进入，热镀锌钢材在以海水为主要成分的培养基中的氢渗透在总体上还是被抑制。

参考文献：

- [1] 李鑫, 李焰, 魏绪钧. 热浸镀锌钢板在青岛不同海水区带的腐蚀行为[J]. 东北大学学报(自然科学版), 2007, 28(8): 1147-1151.
- [2] TANG Xiao, ZHANG Yuzhi, LIU Meng, et al. BEM analysis for galvanic corrosion of hot dip galvanized steel immersed in seawater[J]. Journal of Materials Science and Techonology, 2009, 25(2): 194-198.
- [3] 刘猛. 热浸镀钢材在海水中的氢渗透行为和脆性研究[D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2008.
- [4] Vigdorovich V I, Vigdorovich M V, Ryazanov A V, et al. Suppressing sulfate-reducing bacteria, as well as hydrogen diffusion through steel, by inhibitors of AMDOR IC Type[J]. Protection of Metals, 2007, 43(1): 95-99.
- [5] 朱永艳, 黄彦良, 黄偲迪, 等. 16Mn 钢在海泥中的氢渗透行为研究[J]. 腐蚀科学与防护技术研究, 2008, 20(2): 118-120.
- [6] ZHU Yongyan, HUANG Yanliang, ZHENG Chuanbo, et al. The hydrogen permeation investigation of API X56 steel in sea mud[J]. Materials and Corrosion, 2007, 58(6): 447-451
- [7] Vigdorovich V I., Zavershinskii A N.The effect of SRB on the hydrogen diffusion through a steel membrane, and the bactericide action of dihydroxyazo compounds[J]. Protection of Metals, 2003, 39(1): 93-97.
- [8] 孙成, 韩恩厚, 张淑泉. 土壤中硫酸盐还原菌对 1Cr13 不锈钢腐蚀的影响[J]. 材料研究学报, 2003, 17(2): 192-197
- [9] 赵晓栋, 吴鹏, 姜江, 等. 硫酸盐还原菌对海泥中 Q235 钢腐蚀界面的影响[J]. 材料研究学报, 2007, 21(3): 230-234.
- [10] 严莉, 王佳. 硫酸盐还原菌对海水状态和碳钢腐蚀行为的影响[J]. 海洋科学, 2004, 28(9): 70-74.
- [11] 朱永艳, 郑传波, 李言涛, 等. 海泥中硫酸盐还原菌数量变化对主要腐蚀环境因子的影响[J]. 海洋科学, 2006, 30(11): 37-40
- [12] KUANG Fei, WANG Jia, LI Yan, et al. Effects of sulfate-reducing bacteria on the corrosion behavior of carbon steel[J]. Electrochimica Acta, 2007, 52(20): 6 084-6 088.
- [13] 王振尧. 锌在 NaCl 盐雾中的腐蚀规律[J]. 全面腐蚀控制, 1995, 9(2): 42-44.
- [14] Javaherdashtia R, Singh Ramanb R K, Panterc C, et al. Microbiologically assisted stress corrosion cracking of carbon steel in mixed and pure cultures of sulfate reducing bacteria[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2006, 58 (1): 27-35.
- [15] Kühr V W, Vander V. The graphitization of cast iron as an electrochemical process in anaerobic soils[J]. Water, 1934: 147-165.

Effect of SRB on hydrogen permeation of hot-dip galvanized steel

ZHANG Yu-zhi^{1, 2}, ZHANG Da-lei^{1, 2}, LI Yan¹

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Received: Oct., 12, 2009

Key words: sulphate reducing bacteria, hydrogen permeation, zinc coating, cathodic protection

Abstract: Hydrogen permeation testing with Devanathan-Stachurski cell and SEM analytical method were used to study the hydrogen permeation behavior of hot-dip galvanized steel in sterilized seawater, sterilized medium and medium inoculated with SRB. The results showed hydrogen permeation behavior of galvanized steel was promoted by some components of the medium. The average hydrogen permeation current density of the sample in sterilized medium was 6 times higher than which in sterilized seawater. The compact film formed by SRB, metabolites of SRB and corrosion products decreased the hydrogen adsorption of the sample although S²⁻ and HS⁻ produced by active SRB could promote the hydrogen permeation behavior, which resulted in the average hydrogen permeation current density of galvanized steel in medium inoculated with SRB 77% lower than which in sterilized medium. SEM results showed few products adhered on the sample immersed in sterilized medium, but a film of corrosion products was formed on the sample immersed in sterilized seawater, and a biofilm of SRB and its metabolites together with the film of corrosion products was formed on the sample immersed in medium inoculated with SRB, indicating a obvious relation between the biofilm and hydrogen permeation of galvanized steel.

(本文编辑: 张培新)

(上接第 47 页)

Analysis of diarrhetic shellfish poisoning toxins in shellfishes collected from the coastal waters of south Zhejiang

ZHANG Shu-gang, ZOU Qing, CHEN Lei, GAO Jun-zhang

(Wenzhou Marine Environmental Monitoring Center Station, SOA, Wenzhou 325027, China)

Received: Jan., 15, 2010

Key words: coastal waters of south Zhejiang; high performance liquid chromatography; diarrhetic shellfish poisoning

Abstract: Forty samples belonging to 10 species of shellfishes were collected in coastal waters of south Zhejiang. Diarrhetic shellfish poisoning (DSP) toxins were detected in 9 samples with high performance liquid chromatography (HPLC). The contents of DSP were between 0.07 to 5.87 μg/g; 7 samples (17.5%) exceeded the safety threshold. The positive rate and over-standard rate of DSP were mainly presented in Summer and the south. *Mytilus edulis*, *Sinnovacula constricta*, *Tegillarca granosa* and *Cyclina sinensis* showed high contents of DSP toxins. Moreover cultured shellfishes had stronger ability to accumulate DSP than wild shellfishes.

(本文编辑: 梁德海)